



Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

- + *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.
- + *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.
- + *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.
- + *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

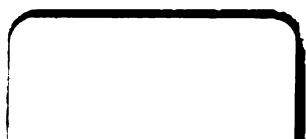
Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter <http://books.google.com> durchsuchen.

UC-NRLF



B 3 789 156



Z^xENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. XLVII. Band.

Originale.

CENTRALBLATT
für
**Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten.**

In Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Professor Dr. Loeffler
in Greifswald,

Geh. Med.-Rat Professor Dr. R. Pfeiffer
in Königsberg

und

Staatsrat Professor Dr. M. Braun
in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Erste Abteilung. XLVII. Band.

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

Originale.

Mit 13 Tafeln und 89 Abbildungen im Texte.



J e n a ,

Verlag von Gustav Fischer.

1908.

THIAGO VIM
JOHNS BODIN

Zur Unterscheidung der Streptokokken durch kohlenhydrathaltige Nährböden.

[Aus dem Hygienischen Institute in Kiel (Geheimrat B. Fischer).]

Von Ernst Salomon,

Assistenten am Untersuchungsamte für ansteckende Krankheiten.

Nachdem es lange Zeit nicht recht gelingen wollte, Streptokokken durch morphologische und kulturelle Eigenschaften zu differenzieren, brachten Schottmüllers Untersuchungen (1903) über das Verhalten der Streptokokken auf Blutagar einen Fortschritt. Schottmüller unterschied unter den pathogenen Streptokokken den *Str. longus pathogenes* seu *erysipelatos*, *Str. mitior* seu *viridans* und *Str. mucosus*. Seine Angaben wurden von E. Fränkel, Rieke, Schumacher, Nieter und Mandelbaum bestätigt. Nach Beitzke und Rosenthal, Natvig, Reber, v. Bardeleben und Scheib ist allerdings die Hämolysebildung der Streptokokken eine unbeständige Eigenschaft und deshalb zu ihrer Unterscheidung wenig geeignet. Nach den im Kieler hygienischen Institute gemachten Erfahrungen ist ein mit 10-proz. Ziegenblut versetzter Agar recht gut geeignet, der *Str. pyogenes* vom *Pneumococcus* und *Str. mucosus* zu unterscheiden.

Wurden die genannten Streptokokkenformen hauptsächlich wegen ihres verschiedenen Wachstums auf Blutagar gesondert, so sollten meine Untersuchungen zeigen, ob die verschiedenen Streptokokkenformen sich auch unterscheiden durch die Säurebildung aus Kohlenhydraten, was ja bei anderen Bakterien, wie bei der Typhus-Coligruppe, schon wertvolle Ergebnisse hatte.

Zuckerhaltige Nährböden zur Unterscheidung der Bakterien wandte 1889 Petruschky an. Er bediente sich der Lackmusmolke: des mit Lackmuslösung gefärbten, neutralen, kasein- und fettfreien Milchserums. E. Fränkel empfiehlt den v. Drigalski-Conradischen Lackmus-Laktose-Agar zur Unterscheidung des *Str. mitior* vom *Pneumococcus*, die mit Blutagar nicht ganz leicht sei: „Im Gegensatz zu dem darauf nur spärlich wachsenden *Pneumococcus* gedeiht der *Streptococcus viridans* in sehr üppigem grauweißen Rasen unter gleichzeitiger starker Rötung des Agars. Nach 24 Stunden tritt diese Erscheinung am deutlichsten hervor. Auf demselben Nährboden entwickelt sich auch leicht der *Str. mucosus* in charakteristischen, schleimigen Belägen. Die Reaktion der Kulturen der drei auf diesem Agar gezüchteten Streptokokkenarten hat sich als gleichmäßig amphoter erwiesen, jedoch ist ihr Säurebildungsvermögen durch ihre gerinnungserregende Einwirkung auf Milch einwandfrei erwiesen.“ Nieter hält den v. Drigalski-Conradischen Agar zur Unterscheidung der Streptokokkentypen für ungeeignet. — Während E. Fränkel schon bekannte Arten auf Zuckernährböden prüfte, untersuchte Gordon 800 Streptokokkenstämmen, gezüchtet aus Speichel oder Kot Gesunder oder aus dem Körper kranker Personen. Er prüfte deren Gärvermögen in Bouillon mit je 1 Proz. von 10 verschiedenen Kohlenhydraten. 300 aus Speichel ge-

züchtete Streptokokkenstämme zersetzten sämtlich Saccharose, nicht aber Mannit. 300 Streptokokkenstämme aus Kot zersetzten alle das Glykosid Salizin, was bei den erstgenannten nur selten geschah. 200 Streptokokkenstämme aus dem Körper kranker Personen zersetzten zum größten Teil Saccharose und Laktose (teilweise auch Salizin), gaben sonst keine einzige positive Reaktion. Gordons Angaben, daß auf den verschiedenen Zuckerarten die Streptokokken sich unterscheiden ließen, wurden von Nieter nicht bestätigt, der sie übrigens auch durch die Agglutination nicht trennen konnte. Dammann und Mannegold beschrieben einen *Str. capsulatus gallinarum*, der die „Schlafkrankheit der Hühner“ erzeuge und der in Saccharosebouillon Säure bilde. Baumgarten prüfte 14 Streptokokkenstämme auf Traubenzucker- und Milchzucker-Lackmusagar, ferner 32 Streptokokkenstämme in Lackmusbouillon mit Traubenzucker, Milchzucker oder Rohrzucker. Er fand, daß dadurch sich die verschiedenen Streptokokkenstämme nicht unterscheiden lassen. Dagegen hat Schultze mit dem von E. Fränkel empfohlenen Lackmus-Laktose-Agar recht gute Erfolge gehabt; er betont, daß nur junge Kulturen die Unterschiede deutlich zeigen. Einen Befund von Beitzke und Rosenthal, denen ein Stamm zu verschiedenen Zeiten ungleiche Resultate gab, führt Schultze auf einen Wechsel in der Zusammensetzung der Nährböden zurück. Endlich fand Nieter unter 65 Streptokokkenstämmen bei den meisten eine Rötung der Traubenzucker- und Milchzucker-Lackmusbouillon, sowie der Barsiekowschen Trauben- und Milchzuckerlösung; aber keiner seiner Stämme habe im Gärungsröhrchen mit 9 verschiedenen 1-proz. Zuckerbouillonarten auch nur eine Spur von Gasbildung gezeigt. Wie Natvig schreibt, studierte Hayek die Säurebildung der Streptokokken durch Zusatz von Lackmustinktur zu den Nährböden; v. Lingelsheim (1903) führte die Titrierung der Bouillonkulturen ein, die auch Pasqual verwandte. Frau Sieber-Schumoff (1892) hat die von den Streptokokken, Weichselbaum, Würtz und Mosny haben die von den Pneumokokken gebildete Säure qualitativ bestimmt. Natvig prüfte (1905) seine Streptokokkenstämme auch auf neutralem 1½-proz. Traubenzuckerhochagar mit Ascites (2:1); durch Asciteszusatz werde der Agar lockerer, so daß der Sauerstoff der Luft tiefer eindringen könne. Eine diffuse Trübung, die wohl auf Eiweiß-fällung beruhe, kennzeichne die Säurebildung.

Im Kieler hygienischen Institute wurden seit Mai 1907 die von v. Lingelsheim angegebenen zuckerhaltigen Lackmus-Ascites-Nährböden von Stövesandt bei Meningokokken geprüft. Durch Herrn Dr. Reiner Müller wurde ich angeregt, das Verhalten von Streptokokken auf solchen Nährböden zu untersuchen.

Meine Streptokokkenstämme wurden aus den Proben, die dem bakteriologischen Untersuchungsamte zuzugingen, gezüchtet und möglichst frisch geprüft, derart, daß die in wenigen Tagen gesammelten Stämme gemeinsam ausgesät wurden. Weitere Stämme verdanke ich der Güte der Herren Professor Heim in Erlangen, Professor Král in Prag und Dr. Mandelbaum in München. Im ganzen wurden 18 Arten von Kohlenhydraten verwandt und zwar 10-proz. Lösungen in Lackmustinktur (nur das schwer lösliche Dulzit wurde in Substanz, Inulin und Amylum solub. als Emulsion zugefügt), wovon jedesmal 1½ ccm mit 10 ccm 3-proz. Nähragars gemischt wurden, worauf dieser 58° warmen Mischung 5 ccm gleichwarmer Ascitesflüssigkeit zugesetzt wurden, so daß jedesmal eine 1-proz. Lösung des Kohlenhydrates in dem Nährboden vorlag. Das

anfangs zum Vergleich neben dem Ascites verwandte Ziegenserum war weniger brauchbar, weil es den Nährboden trübte. Auf den zum Vergleich ohne Kohlenhydrate angesetzten Ziegenserum- und Ascitesnährböden sah ich nie eine Rötung, obwohl z. B. Cobbet annimmt, daß Diphtheriebacillen in solchen Serumnährböden Säure bilden. Um unter ganz gleichen Bedingungen zu züchten, wurden stets mehrere Stämme in dieselbe Petri-Schale verimpft. Nach 3—4 Tagen machte sich meist ein Nachbläuen durch Alkalibildung bemerkbar; eine längere Beobachtung änderte das Ergebnis kaum.

Die Tabellen I und II zeigen, daß von 78 Stämmen aus den 18 Kohlenhydraten sehr ungleichmäßig Säure gebildet wurde. Aus einigen bildeten sehr zahlreiche Stämme Säure, also Rötung, aus anderen nur ganz vereinzelte. So wurde Dulzit, Isodulzit und Inulin von keinem Stamme, Erythrit von 1 und Adonit von 2 Stämmen verändert; während Dextrose, Lävulose, Maltose, Laktose, Saccharose und Amylum solubile mit der Mehrzahl (58 bis 41) Rötung erzeugten.

Für die Unterscheidung der Streptokokken haben sich mir Glyzerin, Arabinose, Mannit, Raffinose und Amylum solubile als besonders geeignet erwiesen. Mit Dextrose, Lävulose, Maltose und Saccharose dagegen ließen sich kaum Verschiedenheiten erkennen, denn wenn die Stämme auf einer davon rot wuchsen, so taten sie es meist auch auf den anderen. Wenn also Baumgarten bei 46 Streptokokkenstämmen keine Unterschiede in der Zerlegung von Trauben-, Milch- und Rohrzucker fand, so kann dies nicht auffallen. Uebrigens hat schon Smith gesagt, daß „Säurebildung und Gasbildung wertvolle diagnostische Merkmale sind, wenn wenigstens 3 Zuckerarten, unter Ausschließung des Fleischzuckers, geprüft werden“.

Daß man bei Wiederholung des Versuches nicht immer genau dieselben Resultate erhält, darf nicht wunder nehmen; denn es scheinen schon allerlei unbedeutende Abweichungen in der Zusammensetzung des Nährbodens von Einfluß auf die Säurebildung in den kohlenhydrathaltigen Nährböden zu sein, wenn wir hören, daß nach Schultze der Eintritt der Säurebildung abhängig ist von dem Alter der Kultur, nach Natvig von der ursprünglichen Reaktion des Nährbodens, nach Rolly von dem Gehalt der Laboratoriumsluft an CO_2 und NH_3 , nach Köstler von dem wechselnden Sauerstoffgehalt des Nährbodens und auch von der Herkunft des Serums (Longcope, Warfield) insofern, als die Pneumokokken z. B. aus dem Serum eines an Nephritis oder an Urämie Leidenden eine gewisse Menge Säure, aus tuberkulösem Rinder- oder Pferdeserum keine Säure, aus normalem Kaninchenserum wieder deutlich Säure bilden sollen. So wäre es auch wohl nicht von vornherein ausgeschlossen, daß die Pneumokokken und auch die Streptokokken verschiedenartigem Ascites gegenüber sich ungleich verhielten. Gordon, der flüssige Nährböden benutzte, gibt allerdings an, daß das Ergebnis bei Wiederholung der Probe mit 800 Streptokokkenstämmen gleich geblieben wäre. Mir aber war auffallend, daß der Str. mucosus 4 der Tabelle IIB, der der Serie vom 2. Dez. zugefügt wurde — wenn auch 8 Stunden später als die anderen 10 Stämme (oder ob aus diesem Grunde) — nur aus 4 Kohlenhydraten Säure bildete, bei Wiederholung der Probe 10 Tage später aber deren 11 angriff; andererseits verhielten sich beispielsweise die Pneumokokken 1 und 2 der Tabelle IIC in verschiedenen Serien gleich, der Stamm 2 der Tabelle IIB in derselben Serie doppelt angelegt — allerdings von verschiedenen Nährböden aus

abgeimpft — bis auf Saccharose vollkommen gleich; Stamm 1 und 2 der Tabelle I A II doppelt angelegt in einer Serie — auch von verschiedenen Nährböden aus abgeimpft — zeigte bis auf 3 Zucker gleiche Resultate. Stamm 5 der Tabelle I E bildete bei einer Wiederholung der Probe etwa 2 Monate nach der ersten Untersuchung bis auf Mannit und Raffinose,

Tabelle I.

A. Gruppe des *Streptococcus pyogenes*.

Herkunft der Stämme	Blutagar	Glycerin	Erythrit	Arabinose	Adonit	Isodulcit	Dulcit	Mannit	Mannose	Dextrose	Galaktose	Laktulose	Maltose	Laktose	Sakcharose	Raffinose	Dextrin	Inulin	Amyl. sol.
<i>I Streptococcus pyogenes</i>																			
1 Empyem (München)																			
2 Eiter (chirurg. Klin.)																			
3 Abszess d. Hand																			
4 Lunge (Hundstewie)																			
5 Lumballüssigkeit																			
<i>II Aus Blut gezüchtete Streptokokken (Glycerin und Mannit)</i>																			
1 Sepsis																			
2 Sepsis																			
3 Typhusverdacht																			
4 Milzbrand Kr.																			
5 Douglasabszess																			
6 Typhuskranker																			
7 Typhuskranker																			
<i>III Streptokokken aus Difterie verdächtigen Mandelbelägen, die Raffinose röten.</i>																			
1 Angina																			
2 Angina																			
3 Angina																			
4 Angina																			
5 Angina																			
6 Difterie																			
7 Angina																			
8 Angina																			
9 Difterie																			
<i>IV Streptokokken aus Difterie verdächtigen Mandelbelägen, die Raffinose nicht röten.</i>																			
1 Difterie																			
2 Angina																			
3 Difterie																			
4 Angina																			
5 Angina																			
6 Angina																			
7 Angina																			
8 Angina																			
9 Difterie																			
10 Angina (München)																			
11 Angina																			
12 Angina																			
13 Angina																			
14 Angina																			
15 Angina																			
16 Angina																			
17 Angina																			

Bei Blutagar: Klare Hofbildung nach 1 Tage - ☐ nach 2 T. - ☐ Wächst die Kolonie grün - ☐ schwachgrün - ☐

bei den Kohlenhydratnährböden ist ☐ volle Rötung nach 1 Tag, ☐ nach 2 Tagen, ☐ nach 3 Tagen,

. ☐ mässige Röt. . 1 Tag, ☐ . 2 Tagen, ☐ . 3 Tagen.

☐ Nicht geprüft

die das zweite Mal blau blieben, aus denselben Nährböden Säure. Um möglichst Fehler zu vermeiden, stellte ich die Nährböden stets genau in der gleichen Weise her und verwandte fast nur frisch gezüchtete Stämme in den einzelnen, ziemlich schnell aufeinanderfolgenden Serien.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen I und II zusammengestellt, und zwar sind jedesmal die Stämme zusammengefaßt, die in ihrem Ver-

halten zu den Kohlenhydraten übereinstimmten, während die Gruppe E der Tabelle II alle übrigen enthält. Dabei haben sich zwanglos die 4 Gruppen A, B, C, D ergeben und es lag die auffallende Tatsache vor, daß die Gruppe A nur solche Stämme einschließt, die auf Blutagar, soweit darauf geprüft, sich wie *Str. pyogenes* verhalten; daß die Stämme

Tabelle II.
Zeichenerklärung wie unter Tab. I.

Herkunft der Stämme	Blutagar	Glycerin	Erythrit	Arabinose	Adonit	Isodulzit	Dulzit	Mannit	Mannose	Dextrose	Galaktose	Laktulose	Maltose	Laktose	Sukcharose	Raffinose	Dextrin	Inulin	Amyl. sol.
B. <i>Strept. mucosus</i> (mit Schleimbildung auf Nährböden).																			
1 Rachenabstrich	o	■	■					■	■	■	■	■	■	■	■		■		
2 Angina	o	■	■					■	■	■	■	■	■	■	■		■		
3 Rachenschleim	o	■	■					■	■	■	■	■	■	■	■		■		
4 Difterie	o	■	■					■	■	■	■	■	■	■	■		■		
5 Angina	o	■	■					■	■	■	■	■	■	■	■		■		
6 Difterie	o	■	■					■	■	■	■	■	■	■	■		■		
7 Tonsillengeschwür	o	■	■					■	■	■	■	■	■	■	■		■		
8 Kral-Prag	o	■	■					■	■	■	■	■	■	■	■		■		
9 Nasendifterie	o	■	■					■	■	■	■	■	■	■	■		■		
10 Heim-Erlangen	o	■	■					■	■	■	■	■	■	■	■		■		
C. <i>Pneumokokken</i>.																			
1 Lungenflüssigkeit	o																		
2 bei schwerer Pneumonie	o																		
3 Rachenabstrich	o																		
4 Empyem	o																		
5 Angina	o																		
6 Douglasseiter	o																		
7 Angina	o																		
8 Empyem	o																		
9 Rachenschleim	o																		
10 Heim-Erlangen	o																		
11 Pneumokokken als	o																		
12 Erreger einer Meas.	o																		
13 Schweinegrippe	o																		
D. <i>Str. saprophyticus</i> (ohne Veränderung des Blutagars).																			
1 Angina																			
2 Sputum																			
3 Appendic-fistel																			
4 Angina																			
5 Mandelbaum																			
6 Angina																			
E. Sonstige Streptokokken.																			
1 Leucor.																			
2 Sputum																			
3 Angina																			
4 Sputum																			
5 Eiter u. Gallenblase																			
6 Wurst (Enteritis)																			
7 Blut bei Typhus																			
8 Mütter aus Urin																			
9 Faeces																			
10 Angina																			
11 Angina																			
12 Angina																			
13 Str. e. chorea																			
14 Stomatitis																			
15 Eitr. Exsudat																			
16 Douglasseiter																			

der Gruppe B durch die charakteristische Kapselbildung und das glasige, schleimige Wachstum auf Löffler-Serum als *Str. mucosus* charakterisiert waren, und die der Gruppe C durchweg auch nach ihren sonstigen Merkmalen als Pneumokokken angesprochen werden mußten. Streptokokken, die auf Blutagar ohne Hämolyse und Verfärbung wuchsen, sind in der Gruppe D Tabelle II vereint. Ein Blick auf die Gruppe E

der Tabelle II zeigt sofort, daß hier die Stämme außerordentlich differieren und kaum 2 oder 3 davon übereinstimmen.

In der 1. Untergruppe (Tabelle I) sind die Stämme aufgeführt, die wegen ihrer klaren Höfe auf Blutagar als zur Gruppe *Streptococcus pyogenes* gehörig erkannt waren. Alle 5 rötten *Amylum solubile*, nicht aber Glycerin, Adonit, Mannit und Raffinose. Die Untergruppe 2 der Tabelle I enthält eine Reihe von Streptokokken, die zu den anderen nicht recht paßten, obwohl auch sie Hämolyse verursachen; sie enthält auffallenderweise bis auf den Stamm 5 nur solche Stämme, die aus Blutproben von an Sepsis, Typhus und Milzbrand leidenden Kranken stammten und auch zu dem Stamm 5 könnte das Blut eine ursächliche Beziehung haben, da der Douglasabszeß eine vereiterte Hämatocele sein könnte. Für diese Untergruppe ist typisch, daß sie alle Mannit und Glycerin vergären. Da alle hierher gehörigen Stämme bis auf Stamm 5 aus Blut gezüchtet sind, so konnte man daran denken, daß die Einwirkung des Blutes ihr Säurebildungsvermögen verändert haben konnte. Diese Auffassung findet eine gewisse Stütze in den von Gordon gemachten Erfahrungen, denn dieser fand unter 11 Stämmen nach Tierpassage bei zweien eine Veränderung; bei seinen 800 Streptokokken fand er sonst nie eine Veränderung. Ob dem so ist, könnte man so prüfen, daß man einen Stamm aus der 1. Untergruppe Kaninchen in die Blutbahn einspritzt und dann die Zuckerzerlegung bei dem ursprünglichen und dem aus dem Tierblut zu züchtenden Stamme vergleicht. Zwei diesbezügliche Versuche scheiterten an der geringen Virulenz der Stämme gegenüber Meerschweinchen, in einem dritten Falle ging das Tier an anderen Erregern ein.

Die 3. und 4. Untergruppe umfassen nur Stämme aus diphtherieverdächtigen Mandelbelägen, die sich durch ihr Verhalten gegen Raffinose unterscheiden, indem die 3. Untergruppe daraus Säure bildet, die 4. nicht. Wenn auch die 6 ersten Stämme der 4. Untergruppe alle dieselben 8 Kohlenhydrate zerlegen, darf doch die 4. Untergruppe nicht den Wert der übrigen Gruppen und Untergruppen beanspruchen, da hier das Verhalten auf Blutagar zum größten Teil nicht mehr nachgeprüft werden konnte. Würden z. B. die 10 ersten Stämme der 4. Untergruppe klare Höfe auf Blutagar bilden, so stimmten sie vollkommen mit der Untergruppe der Tabelle I überein; wenn sie aber den Blutagar nicht verändern, so gehörten sie zur Gruppe D der Tabelle II, die die gleichen Kohlenhydrate zerlegt. Nur die 6 letzten Stämme der 4. Untergruppe würden, auch im Fall, daß sie sämtlich Hämolyse machen, nicht in der 1. Untergruppe Platz finden, weil sie alle Mannit angreifen.

In der Gruppe B der Tabelle II sind die vor der Prüfung auf den Kohlenhydratnährböden als *Str. mucosus* erkannten Stämme vereint; es ergeben sich hier 2 Untergruppen, von denen die eine besonders Glycerin, Mannit und bis auf einen auch Arabinose, nicht aber *Amylum solubile* angreift, während die 6 Stämme der 2. Untergruppe fast auf keinem der Nährböden Säure bilden. Schultze hatte keinen *Mucosus*-Stamm, der auf einem Lackmus-Nutroseagar Säure bildete. Auch E. Fränkel spricht nur von dem charakteristischen schleimigen Wachstum auf Lackmus-Laktoseagar. Oft erzeugte der *Str. mucosus* auf unseren Nährböden, insbesondere auf Glycerin, Mannit und Dextrose so viel Schleim, daß die Kulturmasse beim Schräghalten fast herabfloß. Diese starke Schleimbildung und die auf dem ja dextroshaltigen Löffler-Serum war für die geprüften *Mucosus*-Stämme bezeichnend. Kohlen-

hydrate, besonders Dextrose, Mannit und Glyzerin scheinen also die Schleimbildung zu begünstigen. Damit stimmt gut überein, daß wir nach den bisherigen Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der Bakterien Schleime diese als Abkömmlinge verschiedener Kohlenhydrate ansehen müssen (Seiler). Wenn 8 Mucosus-Stämme Neumanns auf Löffler-Serum weniger gut wuchsen, so dürfte dies vielleicht auf die Zusammensetzung und Herstellung des Löffler-Serums zurückgeführt werden. Nach Mandelbaum ist die Bildung des Schleimes bei *Str. mucosus* nicht beständig: „Wenn sie unterbleibt, dann sind auch die Kolonien des *Str. mucosus* von denen des *Str. mitior* und *Pneumokokken* nicht zu unterscheiden.“ In einem solchen Falle würde die Erkennung durch Kohlenhydratnährböden möglich sein, falls ein *Str. mucosus* vom ersten Typus vorliegt.

An die 2. Untergruppe schließt sich nach ihrem Verhalten die Gruppe C an, bestehend aus Stämmen, die vor der Prüfung auf diesen Nährböden nach ihrer morphologischen und kulturellen Eigenart — besonders auf Blutagar — als *Pneumokokken* erkannt waren. 13 Stämme zeigten keine Rötung bis auf den Stamm 3, der Lävulose nach 2 Tagen schwach, Saccharose nach 2 Tagen voll veränderte. Unter den 13 Stämmen sind die 3 letzten *Pneumokokken* als Erreger derselben Meerschweinchen-seuche gezüchtet worden, die Wittneben beschrieben hat. Sie röteten keinen der Nährböden; auch E. Fränkel und Schultze sahen auf ihren festen Nährböden bei *Pneumokokken* keine Rötung. Wenn nun andere Autoren, wie Longcope, Duval, Charles, Lewis und Paul *Pneumokokken* zu den Säurebildnern rechnen, so ist dies kein Widerspruch. Denn jene verwenden flüssige Nährböden, wo bestimmte Bakterien in der Tiefe unter mehr anaëroben Bedingungen Säure bilden, während die Säurebildung bei oberflächlichem Wachstum auf festen Nährböden möglicherweise wegen des Luftsauerstoffs ausblieb (Köstler, Vourlant). Es liegt nahe, die 2. Untergruppe des *Str. mucosus* mit den *Pneumokokken* zu einer Gruppe zu vereinigen, zumal schon von verschiedener Seite auf die vielfache Uebereinstimmung und auch auf die Uebergänge zwischen beiden hingewiesen worden ist (Marmorek, Park, Williams, Norries und Papenheimer). Dagegen glaubt Hiss sie trennen zu müssen; denn obwohl er *Pneumokokken* durch Streptokokkenimmenserum in starker Verdünnung agglutinieren konnte, sind nach ihm, gleichviel welche Verwandtschaft früher zwischen dem *Str. mucosus* und dem *Pneumococcus* existiert haben mag, doch die Merkmale, die die beiden trennen, sehr beständig geworden.

Ich untersuchte 9 Sputa von Kranken der sogenannten Influenzaepidemie, die in den ersten Monaten des Jahres 1908 herrschte. 6mal wuchs auf den Nährböden vorwiegend *Str. mucosus*, 3mal *Pneumococcus*. Influenzabacillen fand ich nicht, was nach Zeitungsberichten („Tag“ No. 72) auch anderwärts meist nicht gelungen sein soll.

Streptokokken, die Blutagar nicht veränderten, sind in der Gruppe D vereint. Davon hebe ich nur den nicht pathogenen Stamm 5 aus, den mir Herr Dr. Mandelbaum in München als *Str. saprophyticus* übersandt hat und der sich dadurch unterscheidet, daß er Laktose, Saccharose, Dextrin und Amylum solubile unverändert ließ.

Von Stämmen, die ich als *Str. mitior* bezeichnen konnte, isolierte ich nur den einen Stamm 8 der Tabelle IIE, der sich von allen anderen dadurch unterscheidet, daß er gleich nach 20 Stunden aus Mannit, Man

nose, Dextrose, Lävulose und Saccharose Säure entwickelte, ferner nach 2 Tagen auch Maltose kräftig angriff. Dann sei aus der Gruppe E noch der Str. chorea (Král-Prag) hervorgehoben, der Blutagar grünlich verfärbte und keinen der Nährböden rötete.

Tabelle III.

Säure- oder Alkalibildung in Bouillon mit 1 Proz. Glyzerin, Dextrose, Mannit, Amylum solub. oder Raffinose.

Die Zahlen bedeuten die zur Neutralisation bis zum Phenolphthaleinpunkte nötigen Kubikzentimeter einer $\frac{1}{5}$ Normal-KOH oder = H_2SO_4

	Glyzerin		Dextrose		Mannit		Amyl. sol.		Raffinose	
	0,1	0,05	0,1	0,05	0,1	0,05	0,1	0,05	0,1	0,05
	10 in ccm	5	10 in ccm	5	10 in ccm	5	10 in ccm	5	10 in ccm	5
Titer der 1-proz. kohlenhydrathalt. Kontrollbouillon	0,15		0,1		0,15		0,1		0,15	
Pneumokokken als Erreger v. Meerschweinchenepizootie	0,025	0,05	0,45	0,4	0,8	0,075	0,25	0,1	0,3	0,3
			1,025	0,575	0,2	neutr.	1,0	0,275	1,05	0,7
Pn.-artig aus Augeneiter	0,225	neutr.	0,025	0,75	neutr.	0,025	0,4	0,2	0,435	0,325
Pn.-artig aus Sputum	neutr.	neutr.	0,775	0,3	0,075	neutr.			1,55	0,8
Pneum. aus Sputum			0,05	0,025	0,075	0,05	0,2	0,1	0,3	0,15
Pneum. aus Sputum			1,55	0,8	0,075	0,025	0,5	0,225	1,45	0,75
Str. muc. aus Sputum			1,3	0,65	neutr.	neutr.	1,04	neutr.	1,25	0,65
Str. muc. aus Sputum			1,2	0,6	0,15	0,075	0,275	0,1	0,325	0,75
Str. pyog. aus Angina	neutr.	neutr.	neutr.	0,275	neutr.	neutr.	neutr.	0,15	0,125	neutr.
Str. pyog. aus Angina			1,2	0,8	0,4	0,2	1,35	0,95	1,65	0,825
Str. pyog. aus Angina	0,275	0,05	1,225	0,6	1,2	0,64	0,15			0,225
						0,08				
						Mann.				
Str. pyog. aus Angina	0,65		2,3	1,15	1,6	0,8	2,3	1,1	2,0	0,95
Str. pyog. aus Angina	0,5	0,25	2,375	1,15	0,4	0,225	0,7	0,25	1,7	1,9
										0,1
										Raffin.
Str. ohne Häm. aus Sput.	0,15	neutr.	1,55	0,775	0,125	0,05	0,45	0,3	0,25	0,15

Um zu erfahren, ob sich die Streptokokken vielleicht auch durch die ungleiche Menge der gebildeten Säure unterscheiden lassen, impfte ich 14 verschiedene Stämme in je 2 Bouillonröhrchen mit 10 und mit 5 ccm Bouillon, der 0,1 oder 0,05 g Glyzerin, Dextrose, Mannit, Raffinose oder Amylum sol. zugesetzt waren, so daß jedesmal eine 1-proz. Lösung vorlag. Während ich zuerst die einzelnen Stoffe, Glyzerin ausgenommen, abwog zu Pulvern von 0,1 g und 0,05 g, machte ich bald 10-proz. Lösungen davon in destilliertem Wasser, die ich durch Kochen sterilisierte. Je nach dem Ausgangsmateriale impfte ich mit der Platinnadel ab oder brachte 0,2 einer Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung hinzu, auch in dem Gedanken, ob vielleicht durch die ungleiche Art der Impfung Unterschiede auftreten könnten. Die Kulturen wurden bei 36° 40 Stunden lang in der Brutkammer gehalten. Die Kontrollbouillon ohne Zucker war leicht alkalisch und gebrauchte zur Neutralisation 0,075 bis 0,1 einer $\frac{1}{5}$ Norm.- H_2SO_4 , die Titration wurde mit $\frac{1}{5}$ Normal-KOH oder H_2SO_4 bis zum Phenolphthaleinpunkt gemacht.

Im Vergleich mit meinen in der Tab. III angeführten Ergebnissen möchte ich auf die von Scheib und Natvig hinweisen. Scheibs

Streptokokkenstämme bildeten Alkali, da keiner den Titer der Bouillon erreicht, Natvigs Titerzahlen stimmen gut mit meinen bei 4 Pyogenes-Stämmen gefundenen überein. Natvig schließt, daß sich die echten Streptokokken von den Pneumokokken durch Säureproduktion und Säuretoleranz allein nicht unterscheiden ließen. Ein gleiches Resultat würde ich gehabt haben, wenn ich nur Traubenzuckerbouillon gebraucht hätte. Die Prüfung der anderen kohlenhydrathaltigen Bouillonnährböden ergibt aber — wie Tab. III zeigt — daß sich der *Streptoc. pyogenes* von allen anderen, insbesondere auch von den Pneumokokken dadurch wesentlich unterscheidet, daß er kein Alkali bildet. Zu weiteren Schlüssen scheint mir das vorliegende Material noch zu klein zu sein. Erwähnenswert ist noch der auffällige Befund, daß alle kohlenhydrathaltigen Bouillonröhrchen, in denen Alkali gebildet wurde, vollkommen klar sind, während die säureenthaltenden Bouillonröhrchen eine mit steigenden Säuremengen wachsende Trübung und größer werdenden Bodensatz zeigten. Ein Blick auf die 10 Röhrchen eines Stammes läßt uns das Resultat, wenn auch in groben Zügen, erkennen. Wenn ich von jedem Zucker für einen Stamm zwei Proben ansetzte, so geschah dies sowohl zur Kontrolle, als auch in der Erwägung, ob vielleicht in den niedrigeren Röhrchen zu 5 ccm Bouillon durch den Einfluß des Sauerstoffzutritts nicht stets die Hälfte Säure gefunden wurde, wie in den hohen Röhrchen zu 10 ccm. Und in der Tat haben die 3 ersten Pneumokokkenstämme der Tab. III aus Dextrose und Raffinose in beiden Röhrchen fast gleiche Mengen Säure gebildet. Auch in anderen Fällen ist das Verhältnis der gebildeten Säuremengen für die beiden Röhrchen mit 10 oder 5 ccm Bouillon nicht immer wie 2:1. Daher scheint mir das Vorgehen von Natvig und Scheib nicht ganz einwandfrei zu sein, wenn sie zur Eruierung der in 1000 ccm Bouillon zu bildenden Säuremenge einfach das Ergebnis aus 100 ccm Bouillon mit der entsprechenden Zahl multiplizieren. Um den Einfluß des freien Sauerstoffs auf die Sänreproduktion zu studieren, prüfte Natvig Kulturen in Traubenzuckerbouillon bei Luftzufuhr sowie in luftfreier Bouillon (nach Weichselbaum). Natvig fand keine besonders erheblichen Unterschiede zwischen aërober und anaërober Kultur.

Tabelle IV.

	r ² π ccm	1 Proz. Traubenzucker Kontroll- bouillon bildet Alkal.	Str. pyogenes			Pneumokokken		
			a	b	Bouillon	a	b	Bouillon
Erlenmeyer-Kolben	57,31	0,1	1,2	1,0	klar	1,3	1,25	trüb
Erlenmeyer-Kolben	27,9	„	1,45	1,3	Bodensatz klar	1,325	verun-	trüb
Glasschale	24,3	„	1,3	1,3	Bodensatz trüb	0,15	reinigt	flockig
Senfgläser	16,39	„	1,425	1,375	Bodensatz klar	1,25	—	trüb
Sputumröhrchen	6,07	„	1,25	1,2	Bodensatz klar	1,25	1,1	trüb
Reagenzgläser 5 ccm Bouillon	2,51	„	—	—	Bodensatz —	0,85	0,75	Bodensatz trüb
Reagenzgläser 10 ccm Bouillon	2,51	„	2,1	2,025	trüb Bodensatz	1,5	1,4	Bodensatz trüb Bodensatz

Angeregt durch Köstler, der den Einfluß des Luftsauerstoffs auf die Gärtätigkeit der Milchsäurebakterien beschrieb, impfte ich je 10 ccm 1-proz. Traubenzuckerbouillon in den in Tab. IV bezeichneten Gefäßen mit ausgerechneter Bodenoberfläche, zur Kontrolle ließ ich jedes Gefäß 2mal (in Tab. IV a und b) 40 Stunden bei 36° und fand durch Titrieren mit $\frac{1}{5}$ Norm.-KOH oder H_2SO_4 bis zum Phenolphthaleinpunkt für *Strept. pyogenes* und *Pneumococcus* keinen deutlichen Einfluß des Luftzutritts auf die Säurebildung. Nur ist auffallend, daß in dem hochgefüllten Reagenzglas mit 10 ccm Bouillon, wo in der Tiefe mehr anaerobe Bedingungen gegeben sind, die größte Säuremenge gebildet worden ist. Ferner goß ich zum Studium des Sauerstoffeinflusses auf die Säureproduktion des *Pneumococcus* in untereinander gleichgroße Soxhlet-Flaschen und untereinander gleiche Erlenmeyer-Kolben ungleiche Mengen eines flüssigen Nährbodens, der 2 Proz. Ascites und 1 Proz. Pepton in physiologischer Kochsalzlösung enthielt. In diese verschieden hohen Flüssigkeitssäulen impfte ich einen Pneumokokkenstamm und prüfte nach 4 Tagen die Reaktion der getrübten Nährböden gegen $\frac{n}{20} SO_3$ oder $\frac{n}{20} KOH$; Phenolphthalein diente als Indikator:

Soxhlet-Flasche	100 ccm	neutral
" "	50	" "
" "	10	" schwach alkalisch
Erlenmeyer-Kolben	20	" neutral
" "	10	" schwach alkalisch
" "	5	" " "

Säure konnte nicht gebildet werden, da kein Kohlenhydrat im Nährboden war. Mit der wachsenden Möglichkeit des Sauerstoffzutritts oder mit der Abnahme der Flüssigkeitshöhe ging die Reaktion von neutral in schwache Alkaleszenz über.

Nach Abschließung der Untersuchung der in den beiden ersten Tabellen angeführten Streptokokken prüfte ich noch 31 weitere Stämme auf 6 mit Glycerin, Arabinose, Mannit, Dextrose, Raffinose oder Amyl. soluble versetzten Lackmusascitesagarnährböden. Von diesen 31 Stämmen bildeten 15 Pneumokokkenstämme (darunter 4 als Erreger einer Meererschweinchenepidemie) und 4 *Mucosus*-Stämme (aus den Sputa „Influenzakranker“) keine Säure. Weitere 5 *Strept. pyogenes*-Stämme wurden in der Gruppe A IV untergebracht. Von 3 ohne Hämolyse wachsende Kolonien bildeten 2 keine Säure und schließlich wurden noch 4 Streptokokkenstämme aus Conjunctivalsekret, Abortresten, Eiter und Mandelabstrichen geprüft, die zu den anderen Gruppen nicht recht passen und unter Tab. II E hätten Platz finden müssen.

Zum Schluß möchte ich noch kurz einen Mikroorganismus besprechen, der im menschlichen Körper als *Diplobacillus* gefunden wurde, in den meisten Kulturen jedoch ganz Streptokokkenform hatte.

Im Jahre 1906 übersandte Herr Medizinalrat Dr. Brummund in Stade dem Kieler hygien. Institute Objektträgerausstriche von einem Falle mit hartnäckiger Stomatitis bei einem Manne; ferner ein Agarröhrchen, beimpft mit dem Mundsekrete vom gleichen Falle. Es lag die Mitteilung bei, daß einige Zeit vorher ein ganz gleich ausschender und verlaufender Fall vorgekommen sei, und daß vielleicht eine Infektion durch Milchgenuß vorläge. Ferner seien im direkten Ausstriche Diplobacillen fast in Reinkultur zu sehen, die daher wohl als die Ursache des Krankheitsbildes aufzufassen seien. — Die Untersuchung des eingesandten Materials wurde damals von Herrn Dr. Reiner Müller ausgeführt, der mir die Reinkultur der gezüchteten Mikroorganismen zur Nachprüfung seiner Ergebnisse überließ, die ich in allen Punkten bestätigen konnte.

Das übersandte fuchsingefärbte Ausstrichpräparat zeigte in der Tat fast nur Diplobacillen in großer Zahl, ganz ähnlich den Morax-Axenfeldschen. Sie erwiesen sich aber im Gegensatz zu diesen als grampositiv.

Von dem übersandten mit Mundsekret beimpften Agarröhrchen wurden Oberflächenkulturen auf Blutagar- und Löffler-Serumplatten angelegt. Hier wuchsen nun nahezu in Reinkultur charakteristische Kolonien. In den Einzelkolonien fanden sich aber merkwürdigerweise nur ganz vereinzelt typische Diplobacillen-Formen, meist sah man aneinander gereihte Diplokokken, aber dann und wann auch Uebergänge, derart, daß ein Stäbchen eines Diplobacillus eine Einschnürung in der Mitte zeigte, so daß es wohl einem Diplococcus entsprach. Auf anderen Nährböden, besonders in Bouillon, wuchs der Keim meist ganz streptokokkenartig.

Von den bekannten Streptokokkenformen unterscheidet sich der Keim schon durch seine lange Lebensdauer. So blieb er im 36°-Schrank auf neutralem Agar, durch Watterparaffinverschluß gegen Austrocknung geschützt, stets länger als ein halbes Jahr am Leben.

Auf Blutagar nach 24 Stunden $\frac{1}{2}$ —1 mm breite Kolonien, die dem Nährboden auffallend fest anhaften, nach 48 Stunden beginnt die Bildung eines grünlich verfärbten Hofes, bei schwacher Vergrößerung erscheinen die Kolonien bald mit unregelmäßigem höckerigen Rand, bald eigenartig fächerförmig.

Bei Zimmertemperatur kein Wachstum auf Agar oder Gelatine.

Auf Agar bleiben die Kolonien sehr klein. Charakteristisch war bei Verteilungskulturen in Traubenzuckeragarröhrchen ein zonenartiges Wachstum, ganz ähnlich dem, wie es bei anderen Kulturen von Reiner Müller, dann von Gräf und Wittneben beschrieben worden ist. So war beispielsweise in einem solchen Röhrchen oben eine bis 9 mm herabreichende Kolonienzone zu sehen, dann folgte eine 6 mm hohe kolonienfreie Schicht, dann darunter bis zum Boden wieder Kolonienwachstum. — Diese Eigenschaft zeigte der Stamm auch nach 2-jähriger Weiterzüchtung noch in ausgesprochener Weise. Die obere Kolonienzone erscheint meist etwas eher. — Die untere Kolonienzone fehlt in gewöhnlichem neutralen Agar oft ganz.

In Bouillon finden sich schon nach 24 Stunden schöne Grieselchen, die ungewöhnlich fest sind, als wären die Keime durch Kittsubstanz verklebt. Der Nährboden selbst bleibt klar.

Auf keiner der kohlenhydrathaltigen Lackmusascitesagarplatten entstand durch das Wachstum eine Rötung (Tabelle II E 14).

Im Tierversuch war keine Pathogenität festzustellen, Meer-schweinchen subkutan, intraperitoneal und intracardial, einem Huhne intravenös, Mäusen subkutan eingeimpft, rief der Keim keine Erkrankung hervor.

Zusammenfassung.

Bisher diente fast ausschließlich der Blutagar zur Unterscheidung der Streptokokkenformen. Ihn werden wir auch ferner zu diesem Zweck gebrauchen. Ermöglicht er uns doch die Unterscheidung z. B. der Pyogenes-Gruppe A. I von der Saprophyticus-Gruppe D., wo uns die Kohlenhydratnährböden, durch die ja beide Gruppen gleichmäßig verändert werden, im Stich lassen würden. Trotzdem kann es nur von

Nutzen sein, dem einen Hilfsmittel ein zweites hinzuzufügen. Es ist natürlich nicht notwendig, zur Unterscheidung der Streptokokken alle 18 Kohlenhydratnährböden zu prüfen, sondern es ergibt sich aus der Arbeit, daß nur wenige Zucker die Diagnose ermöglichen und zwar ist charakteristisch für:

A. Gruppe des *Strept. pyogenes*:

- I. *Strept. pyogenes*: Säurebildung aus Amylum solubile, dagegen bleibt Glyzerin, Mannit und Raffinose unverändert;
- II. Aus Blut gezüchtete Stämme: Säurebildung aus Glyzerin und Mannit.

B. Gruppe des *Strept. mucosus*:

- I. Säurebildung aus Glyzerin, Arabinose und Mannit, unverändert bleiben Raffinose und Amylum solubile;
- II. greifen nach 24 Stunden keinen, nach 48 Stunden selten einen der Nährböden an, von denen Dextrose anscheinend bevorzugt wird.

C. Pneumokokken bilden auf Kohlenhydrat-Lackmus-Ascitesagar keine Säure.

Die Prüfung der Säure- oder Alkalibildung in Bouillon ergibt für die untersuchten *Pyogenes*-Stämme das Charakteristische, daß der Nährboden stets sauer und nicht neutral oder alkalisch ist.

Herrn Geh.-Rat B. Fischer sage ich meinen ergebensten Dank für die vielfache Förderung und das stete Interesse an der Arbeit, Herrn Dr. Reiner Müller für die Anregung zu der Arbeit und für die freundliche Unterstützung.

Literatur.

- Baumann, Beiträge zur Unterscheidung der Streptokokken. (Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 1193.)
- Behring, Zur Aetiologie des Milzbrandes. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VII. 1899. p. 177.)
- Beitzke, Die Unterscheidung der Streptokokken mittels Blutnährböden. (Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 331.)
- und Rosenthal, Zur Unterscheidung der Streptokokken mittels Blutnährböden. (Arbeiten aus dem path. Institut. Berlin. 1906.)
- , Zur Differentialdiagnose menschenpathogener Streptokokken. (Münch. med. Wochenschr. 1907. p. 1441.)
- Dammann und Mannegold, Die Schlafkrankheit der Hühner. Eine durch einen Kapselstreptococcus (*Strept. capsulatus gallinarum*) hervorgerufene Hühnerseuche. (Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1905. No. 50.)
- Duval, Charles W. and Lewis, Paul A., Studies on the Pneumococci. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIX. Ref. p. 552.)
- Fränkel, E., Ueber menschenpathogene Streptokokken. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 12 u. 39.)
- Gordon, M. H., A ready method of differentiating streptococci and some results already obtained by its application. (Lancet. 1905. No. 20. p. 1400; Ref. Hygien. Rundsch. Bd. XVI. p. 1027.)
- Gosio, Zersetzungen zuckerhaltigen Nährmaterials durch den *Vibrio cholerae asiaticae* Koch. (Arch. f. Hyg. Bd. XXI. 1894. p. 115. Bd. XXII. 1895. p. 1.)
- Hiss, A comparative study of Pneumococci and allied organisms. (Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905.)
- Köstler, G., Der Einfluß des Luftsauerstoffs auf die Gärtätigkeit typischer Milchbakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIX. p. 395.)
- v. Lingelsheim, Genickstarreepidemie in Oberschlesien 1904/05. (Klin. Jahrb. Bd. XV. 1906. p. 410.)
- Longcope, Warfield, T., A note upon the growth of Pneumococci and Streptococci in bloodserum. (Journ. of Exp. Med. Vol. VII. 1905; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXIX. p. 555.)

- Longcope, Warfield, T. and Fox, A comparative study of Pneumococci and Streptococci from the mouth etc. (Journ. of Exp. Med. Vol. VII. A. 1905. No. 5. p. 430 e Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. p. 172.)
- Marmorek, Die Arteinheit der für den Menschen pathogenen Streptokokken. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. p. 301.)
- Natvig, Bakteriologische Verhältnisse in weiblichen Genitalsekreten. (Arch. f. Gynäk. Bd. LXXVI. 1905. Heft 3; Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVIII. p. 696.)
- Neumann, Kapseltragende pathogene Streptokokken im Nasenrachenraum. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 481.)
- Nieter, Zur Streptokokkenfrage. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LVI. p. 307.)
- , Zur Streptokokkenfrage. (Münch. med. Wochenschr. 1907.)
- Norris and Papenheimer, A study of pneumococci and allied organisms in human mouths. (Journ. of Exp. Med. 1903; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1905.)
- , Charles and Papenheimer, Alwin M., A study of pneumococci and allied organisms in human mouths and lungs after death. (Journ. of Exp. Med. Vol. VII. 1905. No. 5; Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. p. 177.)
- Park and Williams, A study of pneumococci. (Journ. of Exp. Med. 1905; Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Ref. Bd. XXXVIII. p. 664.)
- Petruschky, Bakterio-chemische Untersuchungen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VI. 1889. No. 23 u. 24. p. 625. Bd. VII. 1890. No. 1 u. 2.)
- Rolly, Zur Analyse der Borax- und Borsäurewirkung bei Fäulnisvorgängen nebst Studien über Alkali- und Säureproduktion der Fäulnisbakterien. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIX. 1902. p. 348 u. 406.)
- Scheib, Vergleichende Untersuchungen zur Unterscheidung von Streptokokken aus Uteruslochien etc. (Beiträge z. Geburtsh. u. Gynäk. Bd. XI. Heft 2.)
- Schottmüller, Die Artuntersuchungen der für den Menschen pathogenen Streptokokken durch Blutagar. (Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 20 u. 21.)
- Schultze, W. H., Zur Differentialdiagnose der menschenpathogenen Streptokokken. (Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 24. p. 1167.)
- Segin, Ueber die Einwirkung der Bakterien auf verschiedene Zuckerarten. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. Orig. p. 202.)
- Seiler, Fr., Zusammensetzung der durch Bakterien gebildeten Schleime. Diss. Münster. 1905.
- Smith, Th., Einige Bemerkungen über Säure- und Alkalibildung bei Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. 1890. p. 389.)
- , Ueber die Bedeutung des Zuckers in Kulturmedien für Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XVIII. 1895. p. 9.)
- Stövesandt, Erfahrungen bei der bakteriologischen Untersuchung meningitisverdächtigen Materials. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVI. 1908. p. 295.)
- v. Sommaruga, Ueber Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XV. 1893. p. 304.)
- Vourloud, Action de quelques bactéries sur les hydrates de carbon et de lait tourrésolé. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 2. p. 105.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Bakteriologie des Säuglingsdarmes.

[Aus der Universitäts-Kinderklinik Straßburg i. E. (Prof. O. Kohts)
und der Säuglingsabteilung der medizinischen Universitätsklinik Marburg
(Prof. L. Brauer).]

Von Dr. Paul Sittler, Assistenten der med. Klinik Marburg.

Inhalt.

- I. Beeinflussung der Stuhlflora künstlich ernährter Säuglinge.
 - A. Einleitung: „Physiologische“ und „Kuhmilch“-Stuhlflora.
 - B. Einfluß diätetischer Mittel auf die Stuhlflora.
 - C. Medikamentöse Beeinflussung der Stuhlflora.
- II. Bakteriologie der verschiedenen Darmabschnitte des Säuglings.
 - A. Normale Darmflora.
 - B. Pathologische Darmflora.
- III. Zusammenfassung.

I.

A. Die folgenden Untersuchungen bezwecken keineswegs, eine möglichst vollständige Uebersicht sämtlicher im Darmkanal des Säuglings regelmäßig (oder zufällig) vorkommenden pflanzlichen Mikroorganismen zu geben, sondern sie wollen sich hauptsächlich mit der Biologie einiger weniger, für die Vorgänge im Darmtraktus besonders wichtig erscheinender Arten befassen. — Möglichst vollständige Zusammenstellungen der verschiedenen Darmbakterien des Säuglings mit Literaturangaben finden sich in den wichtigen Arbeiten von Escherich¹⁾, Rodella²⁾, Tissier³⁾, Moro⁴⁾, Nobécourt⁵⁾, Rivet⁶⁾ u. A.

Die Hauptquelle für Züchtung von Darmbakterien bietet der vom Säugling frisch entleerte oder (zur Vermeidung von Verunreinigungen) mit irgend einem hierzu besonders konstruierten Instrument aus dem Rectum entnommene Stuhl. Bei den Stuhluntersuchungen haben sich so auffällige Unterschiede zwischen dem Bakterienbild vom Stuhle des natürlich ernährten Säuglings (Brustkind) einerseits und des künstlich (unnatürlich — Schlossmann) ernährten andererseits gezeigt, daß man geradezu die „physiologische Stuhlflora“ der Brustkinder (Moro) in Gegensatz zu der Stuhlflora künstlich genährter Säuglinge setzte. Die physiologische Stuhlflora der Brustkinder besteht (normale Darmfunktionen vorausgesetzt) fast allein aus einer einzigen Bakterienart, dem streng anaëroben, grampositiven *Bacillus bifidus communis* Tissier⁷⁾, so daß ein Stuhlpräparat eines natürlich genährten Säuglings (nach Gram oder einfach gefärbt) den Eindruck einer Reinkultur von Bakterien macht (die Stuhlpräparate lassen sich, dem äußeren Aussehen

1) Escherich, Darmbakterien des Säuglings. Stuttgart 1886.

2) Rodella, zit. bei Moro.

3) Tissier, Flore intestinale des nourissons. Paris 1900 u. Annales de l'Inst. Pasteur. 1905.

4) Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LXI. 1905. — Arch. f. Kinderheilk. Bd. XLIII. 1906 u. Pfaundler-Schlossmann, Handb. d. Kinderheilk. Bd. II. 1. Teil.

5) Nobécourt, Infections gastro-intestinales. Paris 1899 u. Infections digestives des nourissons. Paris 1904.

6) Rivet, Gastro-entérites infantiles. Paris 1907.

7) Den Tissier auch im Kuhmilchstuhl, „aber in geringerer Menge“ vorkommen sah.

nach, vielleicht am besten mit einem Kulturabstrich von Diphtheriebacillen vergleichen).

Demgegenüber bietet das Stuhlpräparat des künstlich ernährten Säuglings, besonders bei Anwendung der Gram-Färbung (die ich in den folgenden Untersuchungen fast ausschließlich angewandt habe), meist ein gänzlich verschiedenes Bakterienbild: Grampositive und gramnegative Bakterien der verschiedensten Größe und Gestalt, ohne daß bei Untersuchung mehrerer Präparate ein regelmäßiges Vorkommen oder Ueberwiegen dieser oder jener Bakterien besonders auffällt („Kuhmilchstuhlflora“)¹⁾. — Dieses Verhalten der Stuhlflora des künstlich ernährten Kindes ist aber keine absolut notwendige Folge der künstlichen Ernährung. Zwar scheint vielfach dieser Standpunkt bisher vertreten und streng zwischen der physiologischen und der Kuhmilchstuhlflora unterschieden worden zu sein, denn es ist z. B. des öfteren darauf aufmerksam gemacht worden, daß, während beim Brustkind sich die physiologische *Bacillus bifidus*-Flora rein vorfindet, das mittels allaitemment mixte ernährte Kind eine um so mehr von der physiologischen abweichende Stuhlflora bietet, je weniger Muttermilch es erhalte.

Dieser Satz hat keine unbedingte Gültigkeit, da sich bei manchen Arten der künstlichen Ernährung Stühle finden können, welche bei bakteriologischer Untersuchung (im Ausstrichpräparat sowohl wie in der Kultur) dem Stuhle des Brustkindes sehr nahe kommen, ja in manchen Fällen fast vollständig gleichen können. Bei einem derartigen bakteriologischen Verhalten gleichen diese Stühle meist auch makroskopisch (gelbe Farbe, breiige Konsistenz) und in ihrer Reaktion (schwach sauer) denen eines normalen Brustkindes. Dieses Verhalten ist schon Rodella aufgefallen (welcher aber den ihm damals noch nicht bekannten *Bacillus bifidus* mit dem *Bacillus acidophilus* Moro verwechselt): „Die Faeces von eidottergelber Farbe, weicher Konsistenz und leicht saurer Reaktion, solche also, welche als Normaltyp des Säuglingsstuhles beschrieben werden, seien sie nun von Brustkindern oder von Flaschenkindern, weisen in den direkten mikroskopischen Präparaten immer die als säureliebend bezeichneten Bacillen in großer Anzahl oder fast allein auf.“

B. Bei meinen bakteriologischen Untersuchungen habe ich mich hauptsächlich der von Tissier zur Stuhluntersuchung empfohlenen Methode der anaëroben Züchtung in hoher Schicht (Agar, Zuckeragar) nach Liborius-Veillon bedient. Die Beimpfung der Nährmedien geschah in der Weise, daß das durch Kochen flüssig (und luftfrei) gemachte Agar (Traubenzuckeragar) auf ca. 40° abgekühlt, durch gleichmäßige Verteilung des zu untersuchenden Materials (in mehreren Verdünnungen) in den noch flüssigen Nährboden beimpft und dann erstarren gelassen wurde. Durch Zertrümmern des Reagenzglases oder leichtes Anwärmen der peripheren Agarpartien läßt sich unschwer die Agarsäule in toto in eine (sterile) Petri-Schale zur weiteren Untersuchung der gewachsenen Kolonien entleeren. — Anaërobe Strichkulturen mittels alkalischer Pyrogallussäurelösung (Buchner) haben sich mir nicht bewährt, weil auf den Nährböden (wie es bei aëroben Kulturen die Regel ist) fast immer ein Ueberwuchern von *Bacterium coli* und *Bacillus*

1) Der Ausdruck „Kuhmilchstuhlflora“ für die buntgemischte Flora der Faeces vieler künstlich genährter Kinder soll der Einfachheit halber auch im folgenden beibehalten werden. — Ueber das Verhalten der Stuhlflora bei Ernährung mit anderer Tiermilch (Ziegen, Eselinnen) sind mir eingehendere Untersuchungen nicht bekannt.

lactis aërogenes (*B. acidilactici*), den „obligaten Milchstuhl-bakterien“ Escherichs erfolgte. Auch bei Kultur in Zuckeragar in hoher Schicht wird meist infolge des Wachstums dieser Arten das Nährmedium durch Gasbildung mehr oder weniger zerklüftet, ohne daß aber dadurch in den tieferen Partien das Wachstum der streng anaëroben Keime wesentlich gehindert würde. — Zu den Stuhluntersuchungen wurden stets möglichst frisch entleerte Faeces verwandt; eines Instrumentes zur Entnahme von Faeces aus dem Rectum habe ich mich nicht bedient. Ich halte diese Art der Stuhlentnahme für unzweckmäßig, weil man bei nicht gefülltem Rectum keine Faeces, sondern wandständigen Schleim entnimmt, der eine gänzlich verschiedene Bakterienflora (s. unten) zeigen kann.

Von den strengen Anaërobiern des Milchstuhls interessiert uns vorerst der *Bacillus bifidus* (über dessen kulturelle und morphologische Eigenschaften cf. Tissier; ich habe — wie auch Tissier — im Gegensatz zu Moro dieses Bakterium nur in Zuckeragar, nie auf gewöhnlichem Agar wachsen sehen). Es gelingt auf verschiedene Weise, diesen *Bacillus* in Stühlen künstlich genährter Säuglinge dauernd so zum Ueberwiegen zu bringen¹⁾, daß ein Gram-Präparat dieser Stühle sich kaum von dem eines normalen Brustkindes unterscheidet:

Pat. No. 23; Alter 3 Monate (Pertussis, Bronchopneumonie), aufgenommen am 27. Sept., erhält 3-stündlich²⁾ je 60 g Kuhmilch: 45 g 5-proz. Milchezuckerwasser; das Stuhlpräparat vom 29. Sept. zeigt das Bild der gemischten Kuhmilchstuhlflora (gelbbreiger alkalischer Stuhl).

Am 1. Okt. zeigt der Stuhl das gleiche Bakterienbild, aber mit sehr vielen Exemplaren von *Bacillus bifidus*. (Anaërobe Traubenzucker-Agarkultur ergibt: viele Enterokokken³⁾ und viele *Bacillus bifidus*-Kolonien, einzelne Kolonien von *Bacillus exilis*⁴⁾).

Pat. No. XVII; 6 Monate (Bronchitis, Milchnährschaden), aufgenommen 12. Sept., erhält je 30 g Kuhmilch: 75 g 5-proz. Milchezuckerwasser; vom 17. Sept. an werden gelbe, schwach saure Stühle entleert, überwiegend *Bacillus bifidus* enthaltend.

Pat. No. XXI V; 3 Wochen (Morbili), aufgenommen 29. Sept., erhält bis 4. Okt. je 15 g Kuhmilch: 45 g 5-proz. Milchezuckerwasser, dann 30 g Milch: 45 g Milchezuckerwasser. Stuhl am 7. Okt. (und folgende Tage) hellgelb-breiig, schwach sauer, enthält *Bacillus bifidus* fast in Reinkultur.

Pat. No. III; 4 Monate (Atrophie), aufgenommen 17. Juli, erhält je 60 g Kuhmilch: 60 g Reismehlabkochung mit 5 Proz. Milchezuckerzusatz (zur Reismehlabkochung). Stuhl (25. Juli): gelb, schwach sauer mit überwiegend *Bacillus bifidus*.

Pat. No. XVI; 6½ Monate (Atrophie), aufgenommen 23. Aug.; Nahrung je 75 g Kuhmilch: 45 g Reismehlabkochung mit 5 Proz. Milchezucker. Stuhl am 26. Aug. (und folgende Tage): gelblich, schwach sauer, überwiegend *Bacillus bifidus* enthaltend.

Bei Prüfung der Frage, welchen Einfluß die einzelnen in obigen Fällen gegebenen Nahrungsbestandteile auf die Zusammensetzung der Stuhlflora ausüben, bot sich zunächst Gelegenheit zu Stuhluntersuchungen bei Kindern, die aus therapeutischen Gründen (Dyspepsieen, Enterokatarre) pure Reismehlabkochungen bekamen. — Vorher konnte in einem Falle festgestellt werden, daß eine 12 Stunden dauernde Verabreichung von 3-proz. Milchezuckerwasser das Vorkommen von *Bacillus bifidus* im Stuhle nicht in ungünstigem Sinne beeinflusst (Pat. No. XX;

1) Cf. auch Guillemot et Szczawinska, Société de Biologie. Paris 1906. 28 avril.

2) In allen Fällen wurden die Einzelmahlzeiten 3-stündlich verabreicht (7mal täglich bei Kindern unter 3 Monaten, 6mal bei älteren Kindern).

3) Ueber den *Enterococcus*, der identisch (oder nahe verwandt) mit dem *Streptococcus acidilactici* zu sein scheint, siehe unten II. Teil.

4) Cf. Tissier, Flore intestinale des nourissons. Paris 1900.

4 Wochen, erhält wegen Dyspepsie während 12 Stunden 3-stündlich 75 g Milchzuckerwasser; der an den 2 folgenden Tagen entleerte Stuhl enthält zahlreiche Bifidus-Bacillen).

Reismehlabkochung: Pat. No. 19; 8 Monate (Pemphigus idiopathicus, Gastritis), aufgenommen am 10. Juli, wird 2 Tage lang mit Reismehl (1—2 Kaffeelöffel mit $\frac{1}{4}$ l Wasser während 20 Minuten gekocht) mit Milchzuckerzusatz (3 Proz.) ernährt. Stuhl am 12. Juli morgens: schwach sauer; Abimpfung auf Traubenzuckeragar: vorwiegendes Wachstum von *Bacillus bifidus* (neben Enterokokken).

Pat. No. 14; $2\frac{1}{2}$ Monate, bekommt wegen akut exazerbierender Dyspepsie vom 8. Aug. abends an (Stuhl enthält nur Kokken und *B. coli*) Reismehl mit 3 Proz. Milchzucker (vorher $\frac{1}{3}$ Milch, $\frac{2}{3}$ Reismehl). Stuhl am 10. Aug. enthält neben alkalischem Schleim gelbe, breiig-saure Teilchen, in denen sich außer anderen Bakterien zahlreiche grampositive Stäbchen finden, deren Kultur *Bacillus bifidus* ergibt.

Pat. No. X; 10 Monate (akuter Enterokatarth), wird vom 26. Aug. abends bis 28. Aug. früh mit Reismehlabkochung (unter 3 Proz. Rohrzuckerzusatz) genährt. Der zuerst braun-grüne alkalische Stuhl (im Gram-Präparat das Bild der gemischten Kuhmilchstuhlflora zeigend) ist am 28. Aug. gelb (noch schleimig) und sauer und enthält überwiegend *Bacillus bifidus*.

Den gleichen Einfluß auf das bakterielle Aussehen des Stuhlbildes fand ich auch durch Verabreichung von Hafermehlabkochung:

Pat. No. 14 (s. o.); 2 Monate, am 23. Juli wegen Dyspepsie aufgenommen, hat zu Hause die letzten 5 Tage vor der Aufnahme Hafermehlabkochung (mit Rohrzucker) bekommen; von dem bei der Aufnahme entleerten Stuhl (dünn, gelb-schleimig, sauer) zeigt ein Gram-Präparat fast nur *Bacillus bifidus*, Enterokokken, Buttersäurebacillen (unbeweglich), *Bacillus putrificus* und *Bacterium coli*.

Diese Wirkung der Mehlabkochungen (die zum Teil vielleicht auch durch den beigegebenen Milchzucker hervorgerufen ist) hat Rivet (l. c. p. 63) nicht beobachten können.

Verschieden beeinflussen die üblichen Kindermehle (Muffler, Theinhardt, Nestlé, Kufeke) die Stuhlflora; bei ihrer Anwendung (allein oder mit Milchzusatz) habe ich nie ein Stuhlpräparat gesehen, bei dem die Bifidus-Bacillen überwogen. Den Grund hierfür dürften wohl die in diesen Kindermehlen vorhandenen verschiedenartigen löslichen Kohlehydrate bilden. Der vielseitige Gebrauch der genannten und anderer präparierter Kindermehle bei der künstlichen Ernährung trägt wohl auch teilweise die Schuld an dem so oft erhobenen Befunde der gemischten Kuhmilchstuhlflora beim Flaschenkinde.

Bei den zuerst erwähnten Patienten war der *Bacillus bifidus*-Stuhl bei mehr oder weniger starken Milchverdünnungen aufgetreten; es fragt sich nun, wie verändert sich das Verhalten des *Bacillus bifidus* bei Steigerung der verabreichten Kuhmilchmenge? Bei vorsichtiger (langsamer) Steigerung der Kuhmilchmenge in den Mischungen bleibt bei Kindern, deren Stuhlflora schon vorher überwiegend aus *Bacillus bifidus* bestand, diese Flora auch bestehen.

Pat. No. XVI (s. o.), der vom 23.—26. Aug. bei 75 g Milch: 45 g Reismehlabkochung mit 5 Proz. Milchzucker im Stuhl überwiegend *Bacillus bifidus* neben einer geringen Zahl anderer Bakterien gezeigt hatte, bekommt vom 26. Aug. an je 90 g Milch: 45 g Reismehl mit Milchzucker (5 Proz.).

Am 30. Aug. enthält der gelbe, schwach saure Stuhl (von Salbenkonsistenz *Bacillus bifidus* fast in Reinkultur (die früher daneben noch vorhandenen Bakterien sind ganz zurückgetreten).

Bei Steigerung der (Kuh-)Milchmengen bis zur Verabreichung von Vollmilch scheint es nicht zu gelingen, eine schon bestehende Stuhlflora mit *Bacillus bifidus* in fast Reinkultur dauernd zu erhalten. Ich habe öfters bei darmgesunden jüngeren und älteren Säuglingen, die Vollmilch (rein oder neben Brei, Zwieback) bekamen, schöne hellgelbe,

breiige Stühle untersuchen können, in denen der *Bacillus bifidus* in großer Menge vorkam und sich auch leicht kultivieren ließ; aber stets fanden sich daneben noch andere Bakterien in mäßiger Zahl, ein Umstand, der darauf schließen läßt, daß bei Vollmilchernährung (Kuhmilch) im Dickdarm (dem Ort des Wachstums von *B. bifidus*, s. u.) Substanzen vorhanden sind, die ein Wachstum anderer Bakterien, dem *Bacillus bifidus* gegenüber, begünstigen¹⁾. Bei der von Marfan vorgeschlagenen Ernährung älterer Säuglinge mit Vollmilch und 2 Proz. (Milch-)Zuckerzusatz verhält, habe ich ebenfalls keine reine *B. bifidus*-Stuhlflora gefunden.

Andererseits ist die Beobachtung häufig, daß bei Steigerung der Kuhmilchmenge nach Mischungen, die eventuell bei einem anderen Kinde eine typische *B. bifidus*-Flora zur Folge haben, das Bild der Stuhlflora sich ziemlich rasch ändert, um das Aussehen der gemischten Kuhmilchstuhlflora anzunehmen.

Pat. No. XIII; 7 Monate (Dyspepsie), aufgenommen am 3. Sept., erhält nach Besserung der akuten Symptome vom 6.—8. Sept. je 75 g Milch : 60 g Reismehl-abkochung mit Milchzucker (5 Proz.); am 9. Sept. enthält der Stuhl eine mäßige Zahl von *Bacillus bifidus*.

Von da an 90 g Milch : 45 g Reismehl-abkochung (wie vorher); 2 Tage später sind fast keine *Bifidus*-Bacillen mehr im Stuhl nachweisbar.

Nach meinen Beobachtungen kann ich mich des Eindrucks nicht erwehren, daß wir uns beim Eintreten dieses raschen Umschlages der Stuhlflora der Grenze eines beginnenden Milchnährschadens (fester bis harter alkalischer Stuhl, Meteorismus, Gewichtsstillstand) nähern, ohne daß damit die Veränderung der Darmflora in direkten kausalen Zusammenhang zum Milchnährschaden gebracht werden soll.

Pat. No. XXVI; 7 Wochen (Dyspepsie), aufgenommen am 4. Sept. — Seit dem 8. Sept. je 45 g Milch : 45 g Reismehl-abkochung mit Milchzucker (5 Proz.); der Stuhl enthält am 12. Sept. zahlreiche *Bifidus*-Bacillen.

Vom 15. Sept. an $\frac{2}{3}$ Milch : 5 Proz. Milchzuckerwasser; am 20. Sept. ist der Stuhl fest (lehmig), alkalisch und bietet das Bild der gemischten Kuhmilchstuhlflora. Pat. zeigt Meteorismus und Gewichtsabnahme (40 g in 4 Tagen).

Czerny-Keller²⁾ haben als charakteristisch für den Milchnährschaden (neben anderen Symptomen) den festen, weiß bis grau aussehenden seifigen Stuhl beschrieben. Diesen weißen Stuhl habe ich trotz eintretenden Milchnährschadens bei Kindern, welche seit längerer Zeit Milchzucker in ihren Mischungen bekamen, fast nie gesehen. Die Farbe des ebenfalls meist sehr festen Stuhles war hier immer eine gelbliche oder braune; ausnahmsweise fand ich bei Kindern, die reine Vollmilch (oder verhältnismäßig stark konzentrierte Milchemischungen) erhielten, ganz hellgelb aussehende Stühle, deren Oberfläche an der Luft weiß wurde, aber keinen seifigen Glanz zeigte. Dagegen habe ich bei Verabreichung anderer Kohlehydrate (Rohrzucker, Lävulose), worauf weiter unten eingegangen werden soll, typische weiße, glänzende Seifenstühle auftreten sehen.

Daß aber auch ein Milchnährschaden eintreten kann, wenn der *Bacillus bifidus* im Stuhle noch in großer Zahl vertreten ist, zeigt folgender Fall:

Pat. No. XXI; 3 Monate (Furunkulose, Lues hered.?), aufgenommen am 22. Aug., hat seit dem 8. Sept. je 60 g Milch : 45 g Reismehl-abkochung, zuerst mit Dextrose (s. u.),

1) Cf. Moro, Münch. Gesellsch. f. Kinderheilk. Sitzung vom 15. Nov. 1907.

2) Des Kindes Ernährung. Bd. II. Heft 1. Wien 1907.

dann mit Milchzucker erhalten; Stuhl am 9. Sept. gelb, fest, alkalisch, zeigt gemischte Kuhmilchstuhlflora mit *Bacillus bifidus*; anaërobe Zuckeragarkultur ergibt: *B. coli*, *Enterococcus*, *B. exilis* und *B. bifidus*.

Vom 11. Sept. an 75 g Milch : 30 g Reismehlabbkochung mit Milchzucker. Trotzdem der Stuhl (16. Sept.) überwiegend *Bacillus bifidus* enthält, zeigt Pat. den ausgesprochenen Beginn eines Milchnährschadens, der auf Aenderung der Ernährung (Malzsuppe) langsam zurückgeht.

Zur Untersuchung des Einflusses anderer Disaccharide (als des Milchzuckers) auf die Zusammensetzung der Stuhlflora des Säuglings war Gelegenheit vorhanden bei Patienten, welche wegen Milchnährschadens Maltose in Form von Malzsuppe erhielten (es wurde ausschließlich die Kellersche Malzsuppe verabreicht).

Pat. No. XXVI (s. o.); bekommt wegen Milchnährschadens vom 24. Sept. an Kellersche Malzsuppe (120 g). Am 27. Sept. zeigt ein Stuhlpräparat überwiegendes Vorkommen von *Bacillus bifidus*-ähnlichen Bakterien. Es wachsen anaërob auf Zuckeragar überwiegend *B. bifidus* neben Enterokokken und einzelnen *B. exilis*-Kolonien; auf Essig-Dextrose-Bouillon (in der von Salge¹⁾ angegebenen Konzentration) auch *Bacillus acidophilus*.

Das Vorkommen von acidophilen Bakterien, die nach Moro nicht einen einzelnen Bacillentypus, sondern eine Gruppe von Bakterien umfassen, deren besonderes Merkmal das Wachstum auf ziemlich stark sauren Nährböden darstellt [Lehmann-Neumann²⁾ sprechen von acidotoleranten Bakterien] ist besonders auffällig im Stuhle von Malzsuppenkindern, wo der *Bacillus acidophilus* (wie wir der Einfachheit halber auch sagen wollen) vielleicht einen größeren Teil der im Ausstrichpräparat zu sehenden grampositiven Stäbchen ausmacht. Es sei hier deswegen hervorgehoben, weil dieser *Bacillus* nach seiner Entdeckung durch Moro für identisch gehalten wurde mit den im Frauenmilchstuhl fast in Reinkultur vorkommenden Stäbchen, die ja später von Tissier als *Bacillus bifidus* identifiziert wurden. Allerdings findet sich der *Bacillus acidophilus* (der ja zuerst aus dem Frauenmilchstuhl isoliert wurde) auch in Stühlen künstlich genährter Kinder, bei denen nach anderen Nahrungsmitteln als Malzsuppe eine der „physiologischen Stuhlflora“ ähnliche Flora aufgetreten war, aber nach meinen Befunden scheint er hier doch nicht in so großen Mengen und auch nicht mit derselben Konstanz vorzukommen wie im Malzsuppenstuhl, wo man ihn fast immer aus verhältnismäßig kleinen Stuhlmengen zu züchten vermag. Im Gegensatz hierzu ist es mir mehrmals nicht gelungen, den *Bacillus acidophilus* aus kleineren Stuhlmengen künstlich ernährter Kinder zu züchten (wo ich den *Bacillus bifidus* in zahlreichen Kolonien wachsen sah). Jedenfalls erscheint es bei Nachprüfung der (auch von Moro bestätigten) Tissierschen Untersuchungen zweifellos, daß der streng anaërobe, nur in zuckerhaltigen Nährböden züchtbare *Bacillus bifidus* in keinerlei Zusammenhang steht mit dem aëroben (fakultativ anaëroben) auf fast allen gewöhnlichen Nährböden wachsenden *Bacillus acidophilus* (und daß auch dieser wieder streng von dem *B. exilis* zu scheiden ist³⁾). — Es sei hier noch kurz erwähnt, daß Tissier den *Bacillus acidophilus* nie bei „ausschließlich“ mit Frauenmilch ernährten Kindern gefunden hat. — —

1) Der akute Dünndarmkatarrh des Säuglings. Leipzig 1906.

2) Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 4. Aufl. München 1907.

3) Cf. Cahn, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901.

Pat. No. VII; 4 Wochen (Atrophie), aufgenommen am 27. Juli, zu Hause mit $\frac{1}{2}$ Milch $\frac{1}{2}$ Haferschleim, während der 5 der Aufnahme vorhergehenden Tage mit purer Theinhardt-Wasserabkochung ernährt. Vom 28. Juli an Malzsuppe. Der feste, braun-grüne, alkalische Stuhl, der die gemischte „Kuhmilchstuhlflora“ zeigt, ist bis zum 6. Aug. gelb-breiig, sauer geworden und enthält zahlreiche *Bifidus*-Bacillen.

Pat. No. 6; 2 Monate (Bronchopneumonie, Dyspepsie), aufgenommen am 20. Juni, zeigt vom 24. Juni bis 4. Juli bei $\frac{1}{8}$ Milch: Reismehl-Abkochung mit 5 Proz. Milchzucker (neben 3×5 ccm *Lactobacillinbouillon* täglich — s. unten) alkalischen festen Stuhl mit gemischter Kuhmilchstuhlflora.

Vom 5. Juli an (unter Aussetzen des *Lactobacillins* Malzsuppe; in dem morgens am 9. Juli entleerten Stuhl finden sich typische *Bifidus*-Bacillen in überwiegender Menge.

Am 9. Juli Exitus an Bronchopneumonie; 15 Minuten nach dem Exitus wird aus dem Colon ascendens und dem Rectum Material zur Kultur und zum Ausstrich (auf Objektträger) entnommen; darin finden sich neben anderen Bakterien (s. u.) ebenfalls *Bifidus*-Bacillen.

Pat. No. 11; 3 Monate (Atrophie, Milchnährschaden), aufgenommen am 14. Juni, hat bei $\frac{1}{8}$ Milch: 5-proz. Milchzuckerwasser (und $\frac{1}{8}$ Levuretabletten täglich — s. u.) im Stuhlbild konstant überwiegend Enterokokken gezeigt.

Vom 28. Juni an Malzsuppe; am 1. Juli ergibt eine anaerobe Kultur aus dem schwach sauren Stuhle *Bacillus bifidus* neben Enterokokken, während im Ausstrichpräparat der *Bacillus bifidus* fast in Reinkultur erscheint.

Dieses Uebereinstimmen der Flora von Malzsuppen und Frauenmilchstuhl — im mikroskopischen Bilde — war schon Gregor¹⁾ aufgefallen.

Beim Auftreten von dyspeptischen Stühlen bei Malzsuppen-Kindern verschwindet der *Bacillus bifidus* ziemlich schnell aus dem Stuhl-bilde, im Gegensatz zum Brustkinde, wo auch bei etwas länger dauernden Dyspepsieen (vorausgesetzt daß sie nicht schwererer Natur sind), die *Bifidus*-Bacillen noch einen großen Teil der Stuhlbakterien auszumachen pflegen.

Nach Verabreichung von präparierter Buttermilch habe ich im Säuglingsstuhle stets das Bild der bunt gemischten Kuhmilchstuhlflora vorgefunden, ein Befund, der wahrscheinlich in den mit der fertigen Buttermilch verabreichten Rohrzuckermengen (s. u.) seine Erklärung hat, da Rivet (l. c. p. 66 und 67), welcher Buttermilch ohne Rohrzuckerzusatz gab, danach öfters „das vollständige Bild der normalen Frauenmilchstühle“ auftreten sah. —

Im Stuhle von Kindern, welche Rohrzuckerzusatz zu ihren Milchnmischungen erhielten, habe ich niemals ein überwiegendes Vorkommen von *Bacillus bifidus* im Stuhle gesehen. (Als alleinige scheinbare Ausnahme wäre Pat. No. X — s. o. — anzuführen, wo aber weniger der Rohrzucker, als vielmehr die Verfütterung von Reismehl-Abkochung bestimmend auf die Stuhlflora eingewirkt haben dürfte.)

Dagegen gelingt es oft, bei Kindern, welche bei einer Nahrung mit Rohrzuckerzusatz die gemischte „Kuhmilchstuhlflora“ zeigten, durch einfachen Ersatz des Rohrzuckers durch Milchzucker in gleicher Menge, eine Umstimmung des Bakterienbildes im Stuhle herbeizuführen, so, daß der *Bacillus bifidus* das Uebergewicht erhält.

Pat. No. 20; 4 Monate (Morbilli, Bronchopneumonie), aufgenommen am 5. Aug., zeigt bei Ernährung mit $\frac{1}{2}$ Milch: $\frac{1}{2}$ Reismehl-Abkochung mit 5 Proz. Rohrzuckerzusatz gemischte Kuhmilchstuhlflora.

Als vom 11. Aug. ab dieselbe Mischung mit Milchzucker verabreicht wird, verändert sich das Stuhlbild derart, daß der *Bacillus bifidus* darin stark hervortritt.

1) Arch. f. Kinderheilk. Bd. XXIX. — Cit. bei Schmidt-Strassburger, Die Faeces des Menschen. 2. Aufl. Berlin 1905.

(Am 14. Aug. tritt bei derselben Ernährung unter Verschwinden der *Bacillus bifidus*-Flora ein akuter Enterokataarrh auf.)

Pat. No. 19 (s. o.); hatte vom 4. Aug. bis 11. Aug. bei $\frac{3}{4}$ Milch mit Reismehl-abkochung und 5 Proz. Rohrzuckerzusatz einen lehmig-alkalischen Milchkot mit gemischter Kuhmilchstuhlflora.

Nach Ersatz des Rohrzuckers durch Milchzucker tritt schon nach 48 Stunden der *Bacillus bifidus* in zahlreichen Exemplaren hervor (während *Bacillus acidophilus*, wie eine Kultur in Traubenzuckeressig-Bouillon zeigt, im Stuhle fehlt).

Umgekehrt findet man, daß bei Säuglingen, deren Stuhl *Bacillus bifidus* in großer Zahl enthalten hatte, durch alleinigen Ersatz des bisher verabreichten Milchzuckers durch Rohrzucker eine charakteristische Veränderung der Flora in dem Sinne hervorgerufen werden kann, daß bei Rohrzucker die typische „Kuhmilchstuhlflora“ auftritt.

Pat. No. III (s. o.); hat bis zu seiner Entlassung bei $\frac{1}{2}$ Milch: $\frac{1}{2}$ Reismehl mit 5 Proz. Milchzucker überwiegend *Bacillus bifidus*-Flora im Stuhle gezeigt.

Zu Hause erhielt Pat. die gleiche Milch-Reismehlmischung, jedoch mit 5 Proz. Rohrzuckerzusatz; der 2 Tage nach seiner Entlassung (poliklinische Weiterbeobachtung) entleerte Stuhl zeigt das reine Bild der gemischten „Kuhmilchstuhlflora“, in der der *Bacillus bifidus* ganz zurückgetreten ist.

Es war nun von Interesse, nach dem Grunde zu suchen, warum bei Verabreichung von Milchzucker, maltosehaltiger Malzsuppe und von reinem Mehl (Reis-, Hafermehl) die Stuhlflora ein der Frauenmilch-Stuhlflora ähnliches Bild zeigte, während Rohrzucker ein gänzlich verschiedenes Stuhl-Bakterienbild hervorrief.

Die Untersuchung dieser Ursachen ging von folgenden Ueberlegungen aus:

Die oben angewandten Kohlehydrate lassen sich in 2 Gruppen trennen: Die eine Gruppe wird gebildet von der Maltose und den Mehlen (Stärke-mehl), welche sich beim Abbau bis zur Stufe der Hexosen in Dextrose-moleküle hydrolysieren lassen, während die beiden anderen Zuckerarten bei der Hydrolyse je 2 verschiedene Moleküle ergeben: Milchzucker zerfällt in Dextrose und Galaktose; Rohrzucker in Dextrose und Lävulose.

Die Kohlehydrate, deren Verabreichung zum Auftreten und Ueberwiegen von *Bacillus bifidus* im Stuhle führte, bieten also das Gemeinsame, daß sie ganz oder zum Teil aus Dextrose-molekülen aufgebaut sind und daß sie keine Lävulose enthalten.

Bei Invertierung des Rohrzuckers im Digestionstraktus war es also vielleicht die freiwerdende Lävulose, welche (direkt oder indirekt) den Darm zu einem für das überwiegende Wachstum von *Bacillus bifidus* ungeeigneten Orte machte.

Zur Prüfung dieser theoretischen Ueberlegung wurde in den folgenden Fällen die Wirkung der Verabreichung von Dextrose und von Lävulose (in Milchmischungen) auf den Säuglingsstuhl und dessen Flora untersucht.

Pat. No. XXI (s. o.); hatte bei Ernährung mit 45 g Milch: 60 g Reismehl-abkochung und 5 Proz. Milchzuckerzusatz vom 22. Aug. bis 24. Aug. typische gemischte Kuhmilchstuhlflora.

Vom 24. Aug. abends an wird der gleichen Milchmischung statt Milchzucker 5 Proz. Dextrose (Traubenzucker) zugesetzt; schon nach 15 Stunden zeigt ein Objekt-trägerpräparat des gelb-breiigen schwach sauren Stuhles ein überwiegendes Hervortreten von *Bacillus bifidus*-ähnlichen grampositiven Stäbchen.

Ersatz der Dextrose durch Milchzucker (29. Aug.) läßt im Stuhle wieder die bunt-gemischte „Kuhmilchstuhlflora“ auftreten.

Nachdem vom 5. Sept. an wieder Dextrose an Stelle des Milchzuckers gegeben wurde, und im Ausstrichpräparat des Stuhles wieder die *Bacillus bifidus*-ähnlichen Stäbchen überwiegen, zeigt eine 2 Tage später angelegte anaerobe Zuckeragarkultur typische Kolonien von *Bacillus bifidus*, während in Dextrose-Essigbouillon nur wenige — acidophile? — Bacillen zur Entwicklung kommen.

Pat. No. 22; 5 Monate (Atrophie, Furunkulose, subakuter Enterokataarrh), aufgenommen am 15. Aug., erhält die ersten 2 Tage reine Reismehlabbkochung (je 120 g 8-stündlich) mit 3 Proz. Milchsuckerzusatz und am 1. Tage $\frac{1}{2}$, am 2. Tage $\frac{2}{3}$ Levuretabletten (s. unten); nach Besserung der Darmsymptome und Auftreten einer überwiegenden *Bacillus bifidus*-Stuhlflora vom 17. Aug. an je 30 g Milch : 90 g Reismehlabbkochung mit 5 Proz. Milchsucker.

Vom 19. Aug. abends an (Stuhl am 19. Aug. und 20. Aug. früh gelb, schwach sauer reagierend, nur wenig schleimhaltig, enthält überwiegend *Bacillus bifidus*) wird statt Milchsucker zu der oben angegebenen Milchsäuremischung Lävulose (5 Proz.) zugesetzt; am 22. Aug. ist die Stuhlflora eine ganz andere, es zeigt sich das typische Bild der gemischten „Kuhmilchstuhlflora“, im Ausstrichpräparate sind kaum mehr dem *Bacillus bifidus*-ähnliche Stäbchen sichtbar. Vom 23. Aug. an ist der (tags zuvor noch gelblich aussehende) Stuhl rein weiß, seifig glänzend (breiig) geworden. — Reaktion: abwechselnd schwach sauer (dyspeptische Entleerungen) oder schwach alkalisch — und erweist sich im Ausstrich als überwiegend aus langen schlanken, in ihrer Mehrzahl grampositiv gefärbten (dem *Heubacillus* ähnlichen) Stäbchen zusammengesetzt (neben Kuhmilchstuhlflora). Eine anaerobe Kultur ergibt, daß es sich um den unbeweglichen dimorphen Buttersäurebacillus [*Grasberger* und *Schattenfrohn*¹⁾] handelt, in der Form, wie sie von den französischen Autoren als *Bacillus perfringens*²⁾ beschrieben worden ist. (Daneben wachsen aus dem Stuhl Enterokokken, *B. coli* und wenige Kolonien von *B. acidophilus*; kein *B. bifidus*, kein *B. subtilis* oder *mesentericus*, kein *B. Proteus*.)

Wegen eintretender Dyspepsie erhält Pat. vom 27. Aug. an auf 2 Tage Dextrose (an Stelle der Lävulose) in gleicher Menge (und später wieder Milchsucker). 36 Stunden nachher hat die weiße Farbe des Stuhles einer gelblichen Färbung Platz gemacht, das Objektträgerpräparat zeigt wieder ein Ueberwiegen von *Bacillus bifidus*-ähnlichen Stäbchen; die Formen des *Bacillus perfringens* sind fast ganz verschwunden. In der Kultur läßt sich neben *Bacillus acidophilus* mit Leichtigkeit der *Bacillus bifidus* nachweisen.

In den folgenden Tagen verstärken sich die enteritischen Erscheinungen; im Stuhl treten unter Zurücktreten des *Bacillus bifidus* andere grampositive Stäbchen (*B. acidophilus* und *B. perfringens*) in vermehrter Menge auf; Pat. kommt am 2. Sept. (Enterokataarrh mit *Bacillus acidophilus* — Salge³⁾) — ohne Symptome einer alimentären Intoxikation) ad exitum.

Weitere Versuche, die Bakterienflora des Säuglingsstuhles durch Verabreichung von Dextrose oder Lävulose zu beeinflussen, habe ich nicht angestellt, da ich mich des Eindrucks nicht erwehren konnte, daß die Verabreichung beider Substanzen, insbesondere der Lävulose, früher oder später zu dyspeptischen Erscheinungen führte (cf. *Nobécourt*⁴⁾ und *Czerny-Keller*⁵⁾). Damit ist auch die Möglichkeit genommen, z. B. die Dextrose zu therapeutischen Zwecken (Hervorrufen einer *Bacillus bifidus*-Stuhlflora) anzuwenden. — Versuche über die Einwirkung der Galaktose-Verabreichung auf die Säuglingsstuhlflora habe ich nicht angestellt.

Bei den oben näher beschriebenen Versuchen ist jedenfalls die Tatsache als gesichert zu betrachten, daß es mittels Verabreichung von Dextrose leicht gelingt, im Stuhle die sogenannte physiologische *Bacillus bifidus*-Flora hervorzurufen, während umgekehrt diese Flora bei Lävuloseverabreichung verschwindet, um einer gänzlich verschiedenen („Kuhmilchstuhlflora“ mit vielen Exemplaren von *Bacillus perfringens*) Platz zu machen. — Es ist schon oben darauf hingewiesen, daß es bei Zufuhr von Rohrzucker in Milchsäuremischungen kaum je gelingt, eine „physiologische Stuhlflora“ zu erhalten; da an dieser Wirkung die bei Spaltung des Rohrzuckers im Digestionstraktus entstehende Dextrose nach obigen

1) Ueber Buttersäuregärung. [IV. Abhandlung]. (Arch. f. Hyg. Bd. LX. 1907. p. 40.)

2) Diese Bezeichnung ist der Einfachheit halber im folgenden beibehalten.

3) Der akute Dünndarmkataarrh des Säuglings. Leipzig 1906.

4) Revue mensuelle des maladies de l'enfance. 1900. p. 161.

5) Des Kindes Ernährung. Bd. I. p. 321 ff.

Befunden sehr wahrscheinlich nicht beteiligt ist, so muß die Beeinflussung der Stuhlflora allein der Lävulosekomponente des Rohrzuckers zukommen. Diese Veränderung der Bakterienflora erklärt sich vielleicht dadurch, daß durch die Lävulosezufuhr das Wachstum irgend welcher Mikroorganismen (*Bacillus perfringens*?) begünstigt wird, und diese Bakterien wiederum das Aufkommen von *Bacillus bifidus* beeinträchtigen. — Ein direkt schädigender Einfluß auf den *Bacillus bifidus* kann der Lävulose kaum zugesprochen werden; einerseits steht es nicht fest, ob in diejenigen Darmabschnitte, in welchen der *Bifidus-Bacillus* vorkommt (unterster Ileumabschnitt und Dickdarm) noch unresorbierte Lävulose gelangt; andererseits wächst der Tissiersche *Bacillus bifidus* in 2-proz. Lävuloseagar anaërob fast ebensogut wie auf Traubenzuckeragar, während er ja in reinem Agar nicht wächst. Er bildet zwar auf Lävuloseagar etwas früher Involutionsformen, die Dauer der Lebens- (Ueberimpfungs-)Fähigkeit ist aber kaum eine kürzere als bei Traubenzuckeragarkulturen.

Weiterhin sei hervorgehoben, daß ich den weißen, seifig glänzenden Stuhl bei Kindern mit Milchnährschaden, welche Milchzucker in ihren Milchmischungen erhielten, nicht habe beobachten können. Auch ganz feste Stühle, „welche die Wäsche nur wenig beschmutzten und leicht von ihr abzuschütteln waren“ (Czerny-Keller l. c. Bd. II), boten bei Milchzuckerzufuhr nie das weiß-seifige Aussehen dar. Ebenso treten bei Dextrose keine derartigen Seifenstühle auf. — Dagegen habe ich öfters Kinder mit Milchnährschaden (poliklinisch und zum Teil klinisch) beobachten können, welche bei Rohrzuckerzusatz zu ihren Milchmischungen die typischen harten weißen Seifenstühle boten. Es fällt ja nicht schwer, in der poliklinischen Tätigkeit derartige Fälle zu beobachten, weil in den Bevölkerungsschichten, aus denen sich die poliklinischen Patienten rekrutieren, der Gebrauch des Rohrzuckers beim Süßen von Milchmischungen ein fast allgemeiner ist.

Und daß bei Rohrzuckerzufuhr die im Digestionstraktus sich abspaltende Lävulose beim Auftreten der weißen seifigen Stühle (aber nicht der festen Beschaffenheit des Stuhles) eine Hauptrolle spielt, glaube ich aus dem oben Mitgeteilten schließen zu dürfen. Ob hierbei das besonders starke Hervortreten des dimorphen unbeweglichen Buttersäurebacillus (*Bacillus perfringens*) irgend eine Rolle spielt, muß ich dahingestellt sein lassen¹⁾. Jedenfalls ist auch in Rohrzuckerstühlen der *Bacillus perfringens* meist in großer Zahl zu finden.

Bei Dyspepsieen verändert sich die Bakterienflora des Stuhles (bei Rohrzuckerstühlen ebenso wie bei anderen Stühlen) derart, daß die gram-negativen Bakterien meist stark überwiegen; dann haben wir es im Stuhlbilde aber nicht mehr mit der reinen Einwirkung der verabreichten Nahrungsbestandteile zu tun, sondern mit einer Reihe von anderen Faktoren, auf die in einem späteren Abschnitte näher eingegangen werden soll.

C. Nachdem sich gezeigt hatte, daß es auch beim künstlich ernährten Säugling unschwer gelingt, eine der Flora des Brustmilchstuhles fast gleiche Stuhlflora zu erhalten,

1) Freund (Pädiatrische Tagung Dresden 23. März 1907) findet „aus einer Reihe von Fettstoffwechselversuchen, daß das Auftreten sogenannter Seifenstühle beim Milchnährschaden Czernys und Kellers kein Darniederliegen der Fettresorption anzeigt“, ... „daß es sich vielmehr lediglich um eine abweichende Seifenbildung (infolge der bestehenden Darmfäulnis) handelt“.

bot sich bei den während des Sommers 1907 zur Beobachtung kommenden Dyspepsieen und Enterokatarrhen Gelegenheit, den Einfluß einiger medikamentöser Substanzen auf die Zusammensetzung der Stuhlbakterien zu prüfen.

Bevor jedoch auf diesen Einfluß näher eingegangen wird, mögen einige kurze Angaben über das Verhalten der Bakterien in dyspeptischen Stühlen hier Platz finden. Wie oben erwähnt, findet man bei gesunden Säuglingen je nach der Ernährung Stühle, die überwiegend aus *Bacillus bifidus* zusammengesetzt sind, und Stühle mit der bunt gemischten „Kuhmilchstuhlflora“. Bei Dyspepsieen beginnen (wie vorher bemerkt) meist die gramnegativen Stäbchen zu überwiegen, um bald das ganze Bakterienbild zu beherrschen. (Ueber die Frage, welche Bakterien hierbei besonders hervortreten, s. später.) — Dies scheint aber nicht in allen Fällen zuzutreffen. Einmal kann man dünne Stühle (Dyspepsieen der leichtesten Form) beobachten, die mir dadurch zustande zu kommen scheinen, daß normaler Darminhalt schneller als gewöhnlich den Dickdarm passiert, so daß die im Stuhle vorgefundene Flora (Enterokokken) ein Bild der Flora der unteren Dünndarmpartieen bietet. — Andererseits fällt auf, daß in den aus reinem Schleim (meist alkalisch reagierend) bestehenden Partieen dyspeptischer Stühle sich sehr oft der gleiche große, schlanke grampositive *Bacillus* wie im Lävulosestuhl und in großer Zahl vorfindet, der nach dem Befunde der anaëroben Kultur auch als der *Bacillus perfringens* identifiziert werden kann. [Dieser *Bacillus* ist in zahlreichen Fällen von akuten Enterokatarrhen von Tissier¹⁾ gefunden und als deren Erreger angesprochen worden.] — Ebenso wie bei manchen Dyspepsieen, habe ich auch bei den schwersten Formen des akuten Enterokatarrhs (mit den Zeichen der alimentären Intoxikation) in den aus purem Schleim bestehenden Stühlen diesen *Bacillus* (welcher sich auch im Stuhle des darmgesunden Säuglings finden kann), fast stets angetroffen, aber im letzteren Fall (Enterokatarrh) zumeist in Symbiose mit dem *Bacterium coli* (s. u.).

Calomel. Auf die Veränderung des Stuhlbakterienbildes durch medikamentöse Einflüsse (allerdings in ungünstigem Sinne) ist schon von Tissier²⁾ hingewiesen worden, der bei Verabreichung von 2mal 5 mg Calomel eine Veränderung der Stuhlbakterien in dem Sinne erfolgen sah, daß bei Brustkindern sich die Zahl der sonst allein vorhandenen *Bifidus*-*Bacillen* verminderte und durch Kokken und *Colibakterien* ersetzt wurde, während bei künstlich genährten Kindern der nach Calomel entleerte Stuhl rein aus Kokken und *B. coli* bestand. Es scheint dies überhaupt ein bemerkenswerter Vorzug der natürlich genährten Kinder vor den künstlich genährten zu sein, daß erstere ihre Stuhl- (*Bacillus bifidus*-)Flora mit viel größerer Zähigkeit festzuhalten vermögen als künstlich genährte Säuglinge. Betreffs der Tissierschen Versuche der Calomel-Beeinflussung der Säuglingsstuhlflora ist hervorzuheben, daß wir im Calomelstuhl das Resultat aus zwei ganz verschieden wirkenden Faktoren vor uns haben: Zuerst ist klar, daß wir, weil nach der Verabreichung von Calomel eine beschleunigte Entleerung des Darminhaltes stattfindet, im Stuhle die Bakterien der normalen Dünndarmflora (wahrscheinlich den *Enterococcus* s. u.) vorfinden müssen, die im normalen Stuhlbilde zurücktreten, weil sie bei der langen Dauer des Aufenthaltes

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1905.

2) Flore intestinale des nourissons. Paris 1900.

der Faeces im Dickdarm von den Dickdarmbakterien überwuchert zu werden pflegen. Zweitens hat bei Calomelverabreichung die Reizung und die infolgedessen bewirkte stärkere Sekretion der Darmschleimhaut, die eine plötzliche Veränderung des Nährbodens für die Darmbakterien bedeutet, einen bestimmenden Einfluß auf die Flora der Faeces im Sinne einer Vermehrung der gramnegativen Kurzstäbchen.

Für die Richtigkeit dieser Annahme scheint mir die mehrfach beobachtete Tatsache zu sprechen, daß während längerer Zeit verabreichte kleinere Dosen von Calomel (Lues hereditaria), wenn sie keine dyspeptischen Stühle zur Folge hatten, auch keinen irgendwie auffallenden Einfluß auf die Zusammensetzung der Stuhlflora ausübten.

Adstringentien. Die Anwendung von Tannin- und Wismut-Präparaten (Acid. tannicum, Tannalbin, Bismutum subnitricum) bei Dyspepsien und Enterokatarren verändert das Bakterienbild des Säuglingsstuhles in dem Sinne, daß mit dem Verschwinden der dyspeptischen schleimigen Stühle eine Abnahme des im Schleime hauptsächlich vorhandenen *Bacillus perfringens* (und eine Verringerung der gramnegativen Stäbchen) während ein anderer (umstimmender) Einfluß auf die Stuhlflora von den oben genannten Präparaten nicht hervorgerufen wird. Von Anführung einzelner Krankengeschichten glaube ich deshalb absehen zu dürfen.

Nur darauf sei hier besonders hingewiesen, daß von Böhm¹⁾ aus der Marburger medizinischen Klinik nachgewiesen ist, daß nach Darreichung von Bismutum subnitricum bei Säuglingen (eventuell tödlich verlaufende) Nitritvergiftungen zu befürchten sind, daß also von der Anwendung dieses Mittels in der Kinderpraxis am besten ganz Abstand zu nehmen ist.

Die in jüngster Zeit von französischen Autoren (Weil, Lumière und Péhu) empfohlene Anwendung von Gelatine (intern) bei Enterokatarren („Gastroenteritis“) der Säuglinge habe ich (zu je 6—8 g täglich) in 2 Fällen von Dyspepsie während mehrerer Tage versucht, ohne davon irgend einen Einfluß auf die Zusammensetzung der Stuhlflora zu sehen. —

Antibakteriell wirkende Substanzen:

Thiocol: Von der Verabreichung des als Antidiarrhoicum von Nothmann²⁾ angewandten Thiocols bei Säuglingen habe ich ebenfalls keinerlei Einwirkung auf die Stuhlflora gesehen. Die dyspeptischen Stühle, welche das Bild der gemischten Kuhmilchstuhlflora und zahlreiche *Perfringens*-Bacillen zeigten, blieben bei täglich 2—3maliger Darreichung von 0,25 g Thiocol dünnschleimig, eine Aenderung der Flora ließ sich nicht nachweisen.

Milchsäure. Im Gegensatz hierzu habe ich Veränderungen der Stuhlflora bei einem anderen antiseptisch wirkenden Mittel gesehen, bei der von französischen Autoren schon seit langem bei Enterokatarren empfohlenen Milchsäure; gegeben wurde mehrmals täglich 0,5 g Acidum lacticum purum in 10-proz. Lösung (kaffeelöffelweise), meist zusammen mit der Milchmischung oder mit Wasser. Das Präparat wurde auch ohne Schwierigkeiten genommen.

Pat. No. IV; 2 $\frac{1}{2}$, Monate (Gastritis), aufgenommen am 20. Juli, zeigt vom 28. Juli an bei 45 g Milch : 60 g Reismehlabkochung (mit 5 Proz. Milchzucker) braune lehmige alkalische Stühle mit dem Bild der gemischten Kuhmilchstuhlflora.

1) Ueber Nitritvergiftung nach interner Darreichung von Bismutum subnitricum. (Arch. f. exp. Path. u. Pharmacol. Bd. LVII. 1907.)

2) Centralbl. f. d. ges. Therapie. Juni 1907.

Von diesem Tage an bekommt Pat. 3mal täglich 0,5 g Milchsäure in seiner Mischung. Am 31. Juli treten im Stuhl Bifidus-Bacillen in mäßiger Anzahl auf.

Pat. No. II; 8 Monate (Bronchopneumonie, Pemphigus idiopathicus), aufgenommen am 10. Juli, hat bei $\frac{1}{2}$ Milch : Reismehl mit Milchzuckerzusatz alkalische lehmige Stühle mit gemischter Kuhmilchstuhlflora.

Vom 13. Juli an erhält Pat. bei der gleichen Ernährung 4mal täglich 0,25 g Milchsäure, ohne daß ein Einfluß auf die Stuhlflora sich bemerkbar macht.

Vom 21. Juli täglich 4mal 0,5 g Milchsäure; am 23. Juli ist der jetzt breiig aussehende Stuhl schön gelblich gefärbt und enthält vorwiegend Bifidus-Bacillen.

Trotz Fortsetzung der Milchsäureverabreichung beginnt vom 26. Juli an die Bifidus-Flora abzunehmen und die gemischte „Kuhmilchstuhlflora“ bekommt wieder das Uebergewicht.

Pat. No. 17; 6 Monate (Enteritis follicularis, Atrophie, Bronchopneumonie) aufgenommen am 25. Juli hat (bei $\frac{1}{2}$ Milch : Reismehl mit Milchzucker) vom 7. Aug. bis 9. Aug. alkalische fötide Stühle mit Kuhmilchstuhlflora.

Vom 9. Aug. an täglich $4 \times 0,5$ g Milchsäure; nach 36 Stunden tritt im Stuhl eine mäßige Zahl von *Bacillus bifidus* auf, die sich aber 3 Tage später, trotz fortgesetzter Milchsäuredarreichung, wieder vermindert.

Es gelingt demnach, durch Verabreichung von Milchsäure in verdünnter Lösung (5 ccm der 10-proz. Lösung auf ca. 150 ccm Milchmischung mehrmals täglich) wenigstens auf kürzere Zeit das Bakterienbild des Säuglingsstuhles derart zu beeinflussen, daß der *Bacillus bifidus* darin in den Vordergrund tritt.

Milchsäurebakterien. Parallel mit den Untersuchungen über die Einwirkung der reinen Milchsäure auf die Stuhlflora wurde ein Milchsäurebakterienpräparat, das Lactobacillin, angewandt. Die Milchsäurebakterientherapie ist zuerst von der Escherichschen Schule [Brudzinski¹⁾], später auch vom Engländer Dunn²⁾ vermittels Verabreichung von Kulturen des *Bacterium lactis aërogenes* erfolgreich in Angriff genommen worden. Das in den folgenden Fällen gegebene Lactobacillin (aus Yoghurt dargestellt) enthält hauptsächlich ein großes, mäßig dickes grampositives Stäbchen, den *Bacillus caucasicus* (bulgaricus), der einer der stärksten Milchsäurebildner sein soll, während ich ein deutsches Yoghurt-Präparat in Tablettenform, das ich nicht weiter angewandt habe, vorwiegend aus grampositiven Diplokokken (*Streptococcus acidi lactici*) bestehend fand. Verabreicht wurde das Lactobacillin in Form der käuflichen Lactobacillintabletten und als Lactobacillinbouillon.

Pat. No. 19 (s. o.); zeigt bei 45 g Milch : 105 g Reismehlabkochung mit Milchzucker (später $\frac{1}{2}$ Milch : Reismehl) vom Abend des 13. Juli an im alkalischen Stuhl die gemischte Kuhmilchstuhlflora.

Vom 16. Juli bis 26. Juli täglich $\frac{2}{3}$ Lactobacillintabletten in der Milchmischung; vom 18. Juli an enthält der Stuhl zahlreiche Bifidus-Bacillen, die aber, trotzdem die Lactobacillintabletten weiter gegeben werden, nicht das Uebergewicht über die übrige Stuhlflora erlangen und nach Aussetzen des Lactobacillins fast völlig wieder verschwinden.

Pat. No. 5; 7 Monate (Bronchopneumonie), aufgenommen am 12. Juni, erhält vom 29. Juni an neben $\frac{1}{2}$ Milch : Reismehlabkochung mit Milchzucker täglich 3mal 5 g Lactobacillinbouillon. Der vorher alkalische Stuhl mit gemischter „Kuhmilchstuhlflora“ wird sauer und zeigt vom 2. Juli an zuerst überwiegendes Wachstum von Kokken (Enterokokken), am 4. Juli zahlreiche Bifidus-Bacillen.

Zu diesem Falle sei noch bemerkt, daß bei Verabreichung der maltose-haltigen Lactobacillinbouillon auch der Einfluß der Maltose auf das Auftreten einer Bifidus-Flora in Betracht kommen kann (s. o.).

1) Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LII. 1900. p. 469.

2) On the use of living lactic acid bacilli to combat intestinal fermentation in infancy. (Arch. of Pediat. April 1907. Ref. Monatsschr. f. Kinderheilk. Juli 1907.)

Pat. No. 14 (s. o.); hat bei $\frac{1}{4}$ Milch : Reismehlabbkochung mit 5 Proz. Milchsucker schleimige, saure (zerhackt aussehende) Stühle; die schleimigen Teile enthalten hauptsächlich den *Bacillus perfringens*.

Vom 28. Juli an täglich 3mal 0,5 g Tannalbin; die schleimigen Beimengungen verschwinden, damit verringert sich auch die Zahl der *Perfringens*-Bacillen; der jetzt alkalisch gewordene Stuhl zeigt gemischte „Kuhmilchstuhlflora“.

Vom 31. Juli an, bei gleicher Milchemischung täglich 2 *Lactobacillin*-tabletten und 4mal 0,5 g Tannalbin; im Stuhl treten schon 24 Stunden später zahlreiche *Bifidus*-Bacillen auf, vermögen aber die Stuhlflora nicht ganz zu verdrängen.

Auch dieser Fall illustriert das oben über die Anwendung der Tanninpräparate Gesagte; es gelingt zwar durch Tannalbinverabreichung, dem abnormen Ueberwiegen des *Bacillus perfringens* im Stuhle entgegenzutreten und die Schleimbeimengungen zum Schwinden zu bringen, aber eine eigentliche „Umstimmung“ des Bakterienbildes vermag diese Medikation (im Gegensatz zum *Lactobacillin*) nicht hervorzurufen.

Die Verabreichung von *Lactobacillin* ist aber auch nicht in jedem Falle von einem Auftreten und Ueberwiegen der *Bifidus*-Flora im Stuhle begleitet. Welche Gründe hierbei mitspielen (allzu schnelle Steigerung der Milchkonzentration in den verabreichten Mischungen?), habe ich nicht untersucht.

Pat. No. XI; 5 Monate (subakuter Enterokatarrrh, Mehlährschaden), aufgenommen am 29. Aug., erhält vom 30. Aug. an je 45 g Milch : 75 g Reismehlabbkochung mit 5 Proz. Milchsucker und $\frac{3}{4}$ *Lactobacillin*-tabletten täglich; der Stuhl, welcher anfangs gemischte „Kuhmilchstuhlflora“ mit zahlreichen gramnegativen Stäbchen (*B. coli*) zeigte, reagiert nur in der Weise, daß die Zahl der gramnegativen Bakterien sich vermindert, und daß dann eine gemischte Stuhlflora bestehen bleibt.

Pat. No. 6 (s. o.); hat bei $\frac{1}{4}$ Milch : Reismehlabbkochung und Darreichung von 3mal 5 g *Lactobacillin*-bouillon täglich, eine gemischte Kuhmilchstuhlflora, die bei Durchführung der Ernährung mit Malzsuppe (vom 5. Juli an) einer fast reinen *Bacillus-bifidus*-Stuhlflora Platz macht (s. o.).

Bierhefe. Nachdem somit die Tatsache als genügend sicher gelten konnte, daß es in manchen Fällen wohl gelingt, auch durch Darreichung von bestimmten Mikroorganismen die Bakterien des Säuglingsstuhles in einer ganz bestimmten Weise zu beeinflussen [cf. auch Tissier¹⁾], habe ich auch eine andere Art von Mikroorganismen, die Bierhefe, in Hinsicht auf ihre Einwirkung auf die Stuhlflora untersucht. Ich hatte schon früher auf Grund von rein empirischen Versuchen konstatieren können²⁾, daß in manchen, zum Teil sehr schweren Fällen von Enterokatarrrhen bei Verabreichung von (trockenen) Bierhefepräparaten neben der sonst üblichen Therapie eine auffallende Besserung erreicht werden konnte, während z. B. die gleiche Therapie ohne Hefezufuhr kurz zuvor erfolglos geblieben war. Den Grund hierfür glaube ich darin suchen zu sollen, daß es mit Hefe, ähnlich wie mit Milchsäure oder *Lactobacillin*, gelingt, eine Umstimmung der Stuhlflora des Säuglings derart hervorzurufen, daß der *Bacillus bifidus* das Uebergewicht bekommt. Und zwar scheint mir die Bierhefe (die ja auch leichter zu beschaffen ist) hierzu noch besser geeignet zu sein als Milchsäure- oder *Lactobacillin*-verabreichung, aber weniger sicher als z. B. die Malzsuppe, mit der es fast in jedem Falle (falls sie ertragen wird und nicht kontraindiziert ist — Milchnährschaden) gelingt, eine *Bacillus bifidus*-Flora (neben *B. acidophilus*) im Säuglingsstuhle hervorzurufen. Ich will hier gleich hinzufügen, daß die Verabreichung von Bierhefe nur allein eine Aenderung der Stuhlflora, im Sinne der Begünstigung eines *Bifidus*-Wachs-

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1905.

2) Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 36.

tums, bezwecken soll, daß also bei Anwendung der Hefetherapie bei Dyspepsien und Enterokatarrhen zuerst die schädlichen Momente entfernt werden müssen, welche die Darmstörung verursacht und unterhalten haben.

Im Anschluß hieran sei kurz bemerkt, daß die Bierhefe bei Behandlung der Säuglingsenteritiden durch französische und italienische Autoren [Thiercelin et Chevrey¹⁾, Blanchet²⁾, Peroti³⁾] schon vor längerer Zeit empfohlen und mit Erfolg angewandt worden ist.

Bei meinen Versuchen habe ich mich mit Vorliebe der Bierhefe in Form von Trockenpräparaten bedient, ich habe die im Handel als Levuretin (in Tabletten à 0,5 g) erhältliche Trockenhefe benutzt. Ueber andere Präparate habe ich keine Erfahrung, sie dürften sich in therapeutischer Hinsicht aber zum Teil ebenso geeignet erweisen wie das von mir benutzte Präparat. Ich möchte nur hier beifügen, daß nach den Befunden von Strzyzowski⁴⁾ das Gärvermögen der Hefetrockenpräparate untereinander und im Vergleiche mit frischer Bierhefe sehr unterschiedlich ist und fast stets zu Ungunsten der Trockenpräparate ausfällt. — Die Anwendung von frischer Bierhefe hat sich mir weniger bewährt als die Hefetrockenpräparate. Aus meinen Versuchen glaube ich annehmen zu dürfen, daß nach Verabreichung von frischer Hefe (in der erforderlichen Dosis) sehr leicht Dyspepsien auftreten, welche den Erfolg dieser Therapie beeinträchtigen (s. u.). Ob die hier beschriebene Wirkung der Hefe (auf der Säuglingsdarmflora) von ihrem Gärvermögen oder von anderen Eigenschaften abhängt, scheint mir noch nicht entschieden.

Pat. No I; 5 Monate (Atrophie), aufgenommen am 4. Juni, erhält bis zum 9. Juni $\frac{1}{2}$ Milch:Reismehlabbkochung mit 5 Proz. Rohrzuckerzusatz, vom 10. Juni an $\frac{2}{3}$ Milch:Reismehl mit 5 Proz. Rohrzucker und täglich 3mal $\frac{1}{2}$ Levuretin-tablette à 0,5 g. Der am 10. Juni morgens (vor Verabreichung des Levuretins) entleerte Stuhl ist weißlich, fest, mit gemischter Kuhmilchstuhlflora; am 13. Juni werden zwei gelbliche breiige Stühle entleert, die überwiegend Kokken (Enterokokken) enthalten.

Vom 14. Juni an $\frac{2}{3}$ Milch:Reismehlabbkochung mit 5 Proz. Milchzucker und $\frac{1}{2}$ Levuretin-tabletten täglich; die am 17. Juni angelegten anaeroben Zuckeragarkulturen aus dem Stuhl, der im Ausstrich überwiegend grampositive *Bacillus bifidus*-ähnliche Stäbchen zeigt, ergeben typisches Wachstum von *Bacillus bifidus*.

Nachdem vom 18. Juni an die Verabreichung von Levuretin ausgesetzt ist, beginnt auch die Anzahl der mit dem Stuhl entleerten *Bifidus*-Bacillen unter Vermehrung der anderen Stuhlakterien wieder abzunehmen.

Der Einwand, daß in diesem Falle nur der Ersatz des Rohrzuckers durch Milchzucker (in der Milchemischung) das Ueberwiegen des *Bacillus bifidus* im Stuhle begünstigte, scheint mir durch diesen zuletzt mitgeteilten Befund (Verminderung der *Bifidus*-Bacillen mit dem Aussetzen des Levuretins) widerlegt zu sein. Es ist aber andererseits auch nicht unwahrscheinlich, daß Rohrzuckerzufuhr eventuell die Wirkung der Hefe zu beeinträchtigen vermag.

Bei Empfehlung der Hefe gegen hartnäckige Enterokatarrhe hatte ich (l. c.) hervorgehoben, daß ich die besten Resultate bei gleichzeitiger Anwendung von Adstringentien (Tannalbin u. ähnl.) erreicht hatte. Es

1) Revue de thérap. médico-chirurg. 1899. 1. Dez.

2) Thèse de Paris 1900.

3) La Pediatria. 1904. No. 5; ref. Arch. f. Kinderheilk. Bd. XLIII. p. 455. Peroti hat eine Beeinträchtigung der „Virulenz“ (nicht des Wachstumsvermögens) von *B. coli* bei Bierhefeverabreichung gesehen (cf. auch unten die Bakterienbefunde — *B. coli* — beim Enterokatarrh).

4) Therapeutische Monatshefte. 1907. April.

mögen also hier noch einige Fälle von Anwendung von Bierhefe gleichzeitig mit Tannalbin angeführt sein; bei leichten Dyspepsieen ist es ohne jede Aenderung der bisherigen Diät meistens gelungen, durch alleinige Verabreichung von Tannalbin und Hefe zusammen eine physiologische (*Bacillus bifidus*-)Stuhlflora nach wenigen Tagen zu erhalten; bei schwereren Fällen und bei Enterokatarren mußte natürlich außer der Hefetherapie für eine möglichst gründliche Entleerung des Magendarmkanals (durch Calomel u. ähnl. oder Magen-Darmspülung) und eine Verminderung der alimentären Schädlichkeiten (durch diätetische Maßregeln) gesorgt werden.

Diese diätetischen Maßnahmen bei Behandlung der Enterokatarre erschwerten zwar manchmal die Beurteilung des Erfolges der Hefetherapie dadurch, daß sie in manchen Fällen allein schon (Milchzuckerwasser; Reis-Hafermehl-Abkochungen) ein Ueberwiegen des *Bacillus bifidus* im Säuglingsstuhl zur Folge haben konnten. Jedoch boten Kontrolluntersuchungen öfters Gelegenheit zum Nachweise, daß die beabsichtigte Wirkung (Hervorrufen einer *Bacillus bifidus*-Flora) bei Darreichung von Hefe bedeutend rascher eintrat als ohne diese.

Pat. No. 1; 1 $\frac{1}{2}$ Monate, aufgenommen am 23. Mai, erhält bis zum 11. Juni $\frac{1}{2}$ Milch:5-proz. Milchzuckerwasser; der dünne, etwas schleimige Stuhl zeigt während dieser Zeit das Bild der gemischten „Kuhmilchstuhlflora“, mit zahlreichen gramnegativen Stäbchen (*B. coli*).

Vom 11. Juni an außer der gleichen Milchlösung täglich $\frac{1}{2}$ Levuretabletten und 2mal 0,5 g Tannalbin; am 12. Juni und 13. Juni enthält der Stuhl fast ausschließlich Kokken (*Enterococcus*), am 14. und 15. Juni überwiegend *Bacillus bifidus*.

Pat. kommt am 16. Juni an seiner Atrophie und einer hinzugegetretenen Bronchopneumonie zum Exitus; die bei der Darmsektion (13 Stunden nach dem Tode) ausgeführte bakterielle Untersuchung (Ausstrichpräparate) zeigt im Dickdarm fast ausschließlich *Bacillus bifidus*, im oberen Jejunum überwiegend grampositive Kokken (*Enterococcus*) neben wenigen gramnegativen Kurzstäbchen (*B. lactis aërogenes*, *B. coli*), im Ileum nahe der Valvula ileocaecalis ebenfalls vorwiegend Kokken neben zahlreichen grampositiven Stäbchen (*Bacillus bifidus*).

Daß hier (wie auch bei Pat. No. I, s. o.) nach der Hefedarreichung zuerst eine überwiegende Kokkenflora im Stuhle auftrat, möchte ich damit erklären, daß an den beiden ersten Tagen nach Verabreichung von Hefe und Tannalbin die Dyspepsie noch fort dauerte. Jedoch hatte diese Medikation schon auf die Darmflora eingewirkt und zwar derart, daß derjenige Mikroorganismus, der im Dünndarm normalerweise die Oberhand hat, der *Enterococcus* (s. u.) da auch zum Ueberwiegen gekommen war. Infolge der beschleunigten Stuhlentleerung war aber bei dem kurzen Verweilen der Faeces im Dickdarm für den *Bacillus bifidus* keine Möglichkeit mehr vorhanden, sich zu entwickeln und den *Enterococcus* zu überwuchern. Die Stühle mit einer überwiegenden Zahl von (Entero-)Kokken bieten demnach einfach ein Abbild der normalen Dünndarmflora.

Der Möglichkeit, daß die oben beschriebene Aenderung des bakteriellen Stuhlbildes allein die Folge der Abnahme der dyspeptischen Erscheinungen, und nicht in der Hefeverabreichung zu suchen ist, scheint mir verschiedenes zu widersprechen:

Einmal ist es mir in zahlreichen Parallelversuchen, wo Tannalbin (bei leichten Dyspepsieen) angewandt wurde, niemals gelungen, durch Tannalbin oder ein anderes Adstringens allein das Auftreten einer *Bacillus bifidus*-Stuhlflora zu erreichen, wenn vor Beginn der Dyspepsie keine Stühle entleert worden waren, die den *Bacillus bifidus* in großer Zahl enthielten, und wenn neben dem

gegebenen Adstringens die gleiche Diät (Milchmischung) fortgesetzt wurde, bei der auch Dyspepsie aufgetreten war.

Zweitens konnte ich in einigen Fällen, wo das während einiger Tage verabreichte Tannalbin ohne Erfolg auf das bakterielle Verhalten der Stühle war, durch Zugabe von Hefe das Bakterienbild verhältnismäßig sehr rasch in der Weise umstimmen, daß der *Bifidusbacillus* wieder überwog.

Pat. No. XVIII; 5 Wochen (Morbilli, Dyspepsie), aufgenommen am 6. Sept., erhält $\frac{1}{2}$ Milch:Milchzuckerwasser (5-proz.) und vom 7. Sept. an, da etwas schleimige Stühle entleert werden, täglich 0,5 g Tannalbin.

Stuhl am 7. Sept. gelb, wenig schleimhaltig, schwach sauer, enthält viele *Bifidus*-Bacillen. Am 9. Sept. und 10. Sept. werden trotz fortgesetzter Tannalbinverabreichung je 4 gelbliche dünne, saure Stühle entleert.

Vom 10. Sept. an je 30 g Milch: 45 g Milchzuckerwasser (5-proz.); der schwach alkalische Stuhl am 10. Sept. abends zeigt im Ausstrichpräparat gramnegative Kurzstäbchen (*B. coli* und *B. lactis aërogenes*) und grampositive Bacillenfäden. Kultur in Essig-Dextrosebouillon (Salge) ergibt Wachstum von *Bacillus acidophilus* (Dyspepsie mit *Bacillus acidophilus* — Salge — ohne Symptome von alimentärer Intoxikation — s. oben).

Am 11. Sept. werden 7 dünne Stühle entleert; am gleichen Tage bekommt Pat. außer der obigen Milchmischung $\frac{3}{4}$ Levuretabletten und 5mal 0,5 g Tannalbin; am folgenden Tage nur mehr 2 breiige (ziemlich feste), gelbe, schwach saure Stühle; das Ausstrichpräparat zeigt ein fast gleiches Bild wie das Stuhlpräparat eines normalen Brustkindes. Die Kultur ergibt neben zahlreichen acidophilen Bakterien und Enterokokken überwiegendes Wachstum von *Bacillus bifidus*. —

Im Anschluß an diesen (und den oben erwähnten, Pat. No. 22) Fall sei hier nur kurz erwähnt, daß ich die von Salge (l. c.) dem *Bacillus acidophilus* zugeschriebene Pathogenität (als Erreger des Enterokatarrrhs) mit Rücksicht auf sein Vorkommen (zum Teil in großer Zahl — Malzsuppenstuhl) in fast allen normalen Säuglingsstühlen nicht unbedingt anerkennen möchte; vielmehr scheint es mir im vorliegenden Falle sich um eine Dyspepsie mit Vorherrschen der gramnegativen Stäbchen, bei Pat. No. 22 um einen Enterokatarrrh mit *Bacillus perfringens* als vorherrschendem Bakterium gehandelt zu haben (s. u.). Die Möglichkeit, daß im Stuhlbilde der von Escherich als „blaue Bacillöse“ beschriebenen Darmaffektion neben dem *Bacillus acidophilus* auch der (grampositive) *Bacillus perfringens* (oder verwandte Bakterien) in größerer Zahl vorhanden ist (und vielleicht auch eine ätiologische Rolle spielt), scheint mir noch nicht ganz ausgeschlossen. —

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten***Bacillus suipestifer.****Spezifitätsfrage. Mikrobiologische Versuche.**Von Prof. Dr. **Robert Hottinger**, Escola Polytechnica S. Paulo.

Mit 5 Kurven.

Vorliegende Zeilen haben den Zweck, eine früher geäußerte Ansicht, der *Bacillus suipestifer* sei ein vom Darm eingewandeter Coli mit erworbenen pathogenen Eigenschaften, zu stützen; ferner sollen einige Bemerkungen zur Spezifitätsfrage gemacht werden und endlich die Angriffe Lourens gegen eine frühere Arbeit berichtet werden. Es möge erst der letzte Punkt erledigt werden.

Lourens unterzieht nach vorangegangennem Referat meiner Arbeit dieselbe einer sehr wenig schmeichelhaften Kritik. In erster Linie findet er, daß hier ohne Zweifel ein sehr atypischer Schweinepestbacillus zur Verwendung kam. Im Originale wurde ausdrücklich betont, daß auf eine vorausgegangene Arbeit verwiesen werden müsse betreffend die Protokolle, da es mir Raum- und Zeitvergeudung schien, dieselben wieder abzudrucken. In dem betreffenden Originale¹⁾ ist p. 9 bemerkt: „Die Kulturen wurden von Král bezogen, teils verdanke ich der Güte der Herren Dr. Lutz, Direktor des bakteriologischen Staatsinstitutes S. Paulo, und J. Bandi Reinkulturen von *Bacillus suipestifer* und *Bacillus Sanarelli*.“ Die Anführung der Herkunft der Kulturen geschah seinerzeit nicht etwa, um Einwände gegen das gebrauchte Material auf obige Herren abschieben zu können (für die geplante Arbeit kam nur ein eine Leberverfettung hervorrufender *Bacillus* in Betracht), denn es dürfte vielleicht auch einem wenig Begabten möglich sein, bei mehr als 2 Jahre langer ausschließlicher Beschäftigung mit einer Bacillengruppe die Arten derselben auseinanderzuhalten.

Daß Král eine atypische Kultur geliefert habe, möchte ich bezweifeln, denn sie stimmt mit der anderen Kultur von Dr. Lutz überein, beide stimmten auch mit den Artmerkmalen. Uebrigens müßte erst erklärt sein, was unter einer atypischen Schweinepestkultur zu verstehen ist. So riesig konstant sind denn doch die Eigenschaften derselben nicht, daß man von einem feststehenden Typus sprechen könnte. Um diese Ansicht zu beweisen, seien die Versuche, welche Lourens selbst ausgeführt hat, herangezogen; überhaupt werde ich leicht die Einwände von Lourens gegen meine Arbeit durch seine eigenen Versuche widerlegen.

Lehmann und Neumann (Grundriß etc.) geben als differentialdiagnostisches Merkmal des *Bacillus suipestifer* (p. 239) „keine Veränderung an der Infektionsstelle“ an. In der Arbeit von Lourens²⁾ p. 631 unten „... von der Infektionsstelle ausgehend ein starkes subkutanen Oedem“, p. 632 „an der Infektionsstelle aber entsteht allmählich ein Absceß.“

Ich möchte mit diesen Angaben nun nicht etwa die Ansicht äußern, daß ein *Bacillus*, der lokale Veränderungen hervorruft, nicht doch unter Umständen als *suipestifer* angesprochen werden dürfte, denn in der Literatur findet man solche Angaben nicht sehr selten. Aber sicherlich darf er nicht als typisch angesehen werden, denn in der großen Mehrzahl dürften sich solche Veränderungen nicht vorfinden.

1) Inaug.-Diss. Zürich. 1904.

2) Dieses Centralbl. 1907. Heft 5, 6, 7.

Bei meinen Versuchen konnte nie eine solche Unregelmäßigkeit gefunden werden, ich kann die Angabe von Lehmann und Neumann voll bestätigen. Wäre mir ein solcher Fall vorgekommen, hätte ich ihn a conto eines Versuchsfehlers geschrieben. Die Frage der Artkonstanz soll weiter unten näher untersucht werden.

Wenn Lourens so sicher ist, daß es sich in meinen Versuchen ohne Zweifel um einen sehr „atypischen Schweinepestbacillus“ handelte, so dürfte es doch angezeigt sein, wenigstens einen kleinen Beweis dafür anzuführen. Es scheint, als ob Lourens die Protokolle meiner Versuche nicht durchgelesen habe, was doch zu wünschen gewesen wäre, wenn ein Urteil gefällt werden soll.

Weiter bemerkt Lourens, meine Resultate seien hinsichtlich der Pathogenität des Pestbacillus so sehr abweichend von denen der anderen Forscher. Kann sein; aber so viel ist gewiß, daß meine Resultate mit denen von Lourens selbst übereinstimmen. Ich rügte unter anderem die oft sehr kurze Inkubation der künstlichen Infektion. Nun beschreibt Lourens selbst einen Fall (p. 631) einer außerordentlich rasch tödlich verlaufenden künstlichen Infektion nach Impfung eines Ferkels an der inneren Schenkelfläche, wonach der Tod nach 50 Stunden eintrat. Also ein Fall von Schweinepest mit einer Inkubation von 12 Stunden und Tod nach 50 Stunden!

p. 642 wird einem Ferkel die niedliche Dosis von 500 g Bouillonkultur verabreicht, am folgenden Tage krank, tot nach 5 Tagen. Ein anderes Ferkel an 3 Tagen je 10 g Bouillonkultur, krank nach 4 Tagen, tot nach 7 Tagen.

Ein Ferkel mit 10 g Bouillonkultur krank am folgenden Tage (Temperatur 40,3°), tot zwischen 9 und 10 Tagen.

Mehr als mit den obigen Versuchen bewiesen ist, habe ich nicht behauptet, wenn gesagt wurde, die Pathogenität sei großen Schwankungen unterworfen (bei *Bacillus suipestifer* und *Bacillus Sanarelli*). Wieviel Kultur hat wohl das Schwein gekriegt, das nach 50 Stunden starb? Wahrscheinlich nicht mehr wie das Schwein, das bei 500 g Kultur nach 5 Tagen einging. Aus obigen Experimenten berechnet, mußte es bei konstanter Pathogenität etwas mehr wie 1 kg Kultur erhalten haben!

Es sei mir hier erlaubt, beiläufig zu bemerken, daß Infektionsdosen von $\frac{1}{4}$, 1 Reinkultur (auch p. 509 erscheint dieselbe Dosis), einem Ferkel verabreicht, etwas außerhalb der Grenzen eines einwandfreien Versuches stehen. Unter welchen natürlichen Umständen soll ein Ferkel zu einer solchen Dosis Bacillen kommen?

Warum wird 500 g Kultur verabreicht, wenn doch p. 648 behauptet wird, daß es feststehe, daß ein kleines Quantum Bacillen besonders per os letal wirken könne. (Nach meiner Erfahrung wirken diese Bacillen, besonders wenn sie endovenös appliziert werden.)

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die kürzeste Inkubation der durch Lourens erzeugten Schweinepest 12 Stunden beträgt, die längste 5 Tage; Tod nach 50 Stunden oder im letzten Versuche nach 10 Tagen.

Weiter stellt sich Lourens meine Arbeit betreffend die Frage, „ob die Kulturen rein waren, ob nicht vielleicht sogar ein ganz anderer Organismus in denselben vorgehanden war“. Die Ungerechtigkeit dieses Zweifels einer genügenden Beherrschung der elementarsten Fertigkeit in der bakteriologischen Technik habe ich schon vor fast 3 Jahren in einer Arbeit bewiesen, indem für einen bestimmten Zweck (siehe unten) durch Wochen hindurch im ganzen 218mal mit 2 sterilisierten Bouillongläsern abwechselnd Abimpfungen gemacht wurden, ohne daß dabei eine Verunreinigung, also eine Kultur angegangen wäre. Da die Kulturen aber rein bezogen wurden, so dürfte sich doch annehmen lassen, daß ich im stande war, dieselben rein zu erhalten, selbst wenn man mir noch die Unfähigkeit unterschieben wollte, eine Verunreinigung zu erkennen und zu eliminieren.

Soweit meine Erwiderung auf die Kritik von Lourens. Aber auch Theiler kommt sehr ungelinde weg bei der Kritik. Aus weiter unten ersichtlichen Gründen muß ich die für mich wertvollen Ergebnisse Theilers vor der Annulierung bewahren, denn Theilers Ergebnisse wären ja wertlos, könnte ihm vorgeworfen werden, durch technischen Fehler die Pestbacillen getötet zu haben. Lourens' Meinung nach werden oft die in Lymphdrüsen sich befindenden Pestbacillen durch die Hitze des Messers getötet worden sein.

Daß nicht die Technik der Grund war, warum Theiler keine Schweinepestbacillen fand, geht schon daraus hervor, daß er tatsächlich Bacillen fand und isolierte, und zwar Bacillen, die offenbar Ähnlichkeit mit dem Gesuchten hatten, denn in diesen Fällen „wurden weitere Kulturen angelegt, um ihre Identität zu prüfen“ (Fortschr. d. Veterinärhyg. p. 125).

Daß nun der *Bacillus suipestifer* besonders temperaturempfindlich sei, dürfte schwer zu beweisen sein, denn er erträgt eine Temperatur sehr leicht, die alle Eiweißstoffe des Körpers zum Gerinnen bringt, selbst einige Minuten (bis 15 Minuten). Die angesengte Drüse reißt aber in einer Zone, die außerhalb der Gerinnung liegt, denn bekanntlich ist die Resistenz der geronnenen Eiweißstoffe größer als die der genuinen.

Wo aber keine Gewebsteile am Messer haften oder diese wegen zu dünner Schicht infolge thermischer Nachwirkung verschmoren, wird niemand Material zur Aussaat suchen.

Nach dieser Rechtfertigung möchte ich einige Bemerkungen über die Spezifität des Bacillus machen. Es sei erst seine Beziehung zur Seuche behandelt und weiter unten sollen einige biologische Angaben gemacht werden, welche die Ansicht stützen, daß „der Bacillus suipestifer ein vom Darm eingewanderter coliähnlicher Mikrobe sei“.

Tatsachen, die direkte oder indirekte Beweise dafür sind, daß der Bacillus suipestifer nichts mit der spontanen Schweinepest zu tun hat:

Die Inkubation

beträgt durchschnittlich 8—14 Tage, mindestens 5—10 Tage (Friedberger und Fröhner u. A.), d. h. die ersten Krankheitserscheinungen werden nach diesem Termin beobachtet. Die kürzeste Inkubation beträgt also 5 Tage, die längste etwa 2 Wochen bei der spontanen Seuche.

Bei der bacillären Erkrankung sind die Verhältnisse durchaus verschieden. Lourens, dessen Angaben ich in diesem Punkte absolut bestätigen kann, fand, wie wir oben sahen, einen Krankheitsausbruch schon nach 12 Stunden, also in 10mal kürzerer Zeit als bei der kürzesten Inkubation der spontanen Seuche. Bei seinen Versuchen p. 509, 641, 642 tritt die Krankheit in allen Fällen früher auf als die Inkubationszeit der spontanen Seuche beträgt, in fast sämtlichen Fällen ist schon der letale Ausgang erreicht, bevor die Inkubationszeit der Seuche erwartet werden könnte.

Die längste Inkubation wird zu etwa 2 Wochen angegeben. Ich habe Fälle beobachtet, bei denen die Inkubation etwa 7mal länger war als bei der spontanen Seuche, der Tod trat nach 4 Monaten ein.

Ueber diese Unregelmäßigkeit wird ohne weiteres weggegangen, sie erheischt aber sicher eine einwandfreie Erklärung, soll die bacilläre Erkrankung und die Seuche als identisch betrachtet werden. Namentlich die sehr kurzen Inkubationen nach oft sehr geringen Dosen Kultur sind nicht in Einklang zu bringen mit der viel längeren Inkubation bei der spontanen Seuche. Die Annahme, daß es sich in diesem Falle um ein hochvirulentes Material handelt, ist nicht stichhaltig, denn die gleiche Kultur gibt in anderen Fällen ganz andere, unverhältnismäßig längere Inkubationen, namentlich dann, wenn die Infektion per os vorgenommen wird, aber auch bei endovenöser Behandlung sind die gleichen Differenzen zu beobachten.

Die Inkubation aber, welche mit künstlicher Uebertragung der Krankheit durch das filtrierte Virus erhalten wird, stimmt mit derjenigen der spontanen Seuche überein.

Die Mortalität wird bei der spontanen Seuche auf etwa 50 bis 80 Proz. der Kranken angegeben. Die gleiche Zahl könnte mit bacillären Infektionen ebenfalls erhalten werden, so daß hier ein Unterschied nicht zu bestehen scheint. Und dennoch ist ein sehr großer Unterschied bemerkbar. „Die spontane Schweinepest ist namentlich bei den jungen Schweinen bis zum Alter von 4 Monaten eine sehr verheerende Seuche“ (Friedberger und Fröhner). Nach diesem Alter wird die Gefahr kleiner. Bei der bacillären Erkrankung kann aber diese Tatsache keineswegs bestätigt werden. Aus ökonomischen Rücksichten werden wohl meist junge Tiere zu den Versuchen gewählt; aber ältere Tiere

reagieren ebenso prompt wie die jungen, wie ich mich verschiedene Male überzeugen konnte. Während sich die Virulenz und Mortalität bei der spontanen Seuche nur auf die Schweine beschränkt, finden wir dieselben unverändert, oft vermehrt bei fast allen Haustieren und zwar nicht nur bei den Haussäugetieren, sondern auch bei den Vögeln

Die Empfänglichkeit

für die spontane Schweinepest ist auf das Schwein beschränkt, für die bacilläre Krankheit gilt dies nicht. Aus den Versuchen Sanarellis mit seinem Gelbfieberbacillus und anderen Analogieschlüssen darf angenommen werden, daß sich auch der Mensch empfänglich zeigen würde für diese bacillären Infektionen und doch ist, sehr entgegen der alten Theorie, nie der Versuch gemacht worden, eine Ansteckung des Menschen, namentlich der Pfleger und Wärter durch besondere Maßregeln zu verhüten. Und doch wäre die Schlußfolgerung nicht unlogisch, wenn man annehmen würde, daß sich diese Infektion gelegentlich doch geben würde. Beim Menschen würde aber dann mit aller Sicherheit die Diagnose Paratyphus B gestellt, dann nämlich, wenn der Zusammenhang der Infektion mit der Seuche nicht bekannt wäre, im anderen Falle könnte natürlich die Erkrankung als auf den Menschen übergegangene Infektion mit Pest gelten und wäre in diesem Falle die Diagnose *Bacillus suipestifer* zu erwarten. Auf diese Diagnosen werden wir unten zu sprechen kommen.

Es darf angenommen werden, daß Bacillen, die aus einer bestimmten Tierart als pathogen isoliert werden, diese pathogenen Eigenschaften für diese Tierart in höherem Maße besitzen als für andere. Es sind dann größere Dosen notwendig, um eine Infektion zu verursachen, diese Dosen aber sind vielleicht unter den gewöhnlichen Verhältnissen, selbst unter sehr ungenügender hygienischer Erziehung für den Menschen nicht erreichbar. In diesem Falle wird es natürlich nicht zu einer Erkrankung kommen.

Anders liegt aber die Frage bei den Tieren, die oft mit den Schweinen in sehr innigem Kontakte leben und bei denen die Möglichkeit einer Infektion in sehr starkem Maße gegeben ist. Aber auch bei diesen Tieren ist von einer Infektion bei der Seuche nichts zu beobachten. Dies gilt namentlich von der spontanen Seuche. In einem allerdings isoliert dastehenden Falle gelang es mir, eine spontane Infektion mit *Bacillus suipestifer* bei einem Kaninchen zu beobachten, so daß die Möglichkeit einer spontanen Miterkrankung der Kaninchenbestände in einem verseuchten Gehöfte zugegeben werden kann, im Falle angenommen wird, daß der *Bacillus* die ausschlaggebende Rolle bei der Schweinepest spiele. Daß diese Miterkrankung nicht vorkommt, darf als feststehend angesehen werden.

Und trotz alledem wird das Kaninchen vorzugsweise für Uebertragungsversuche für die Diagnose Schweinepest angewendet, die Pathogenität soll also nur experimentell, aber nicht spontan sein.

Der Unterschied dieser Befunde gegenüber denjenigen mit filtriertem Virus ist für die Spezifität des *Bacillus* sehr ungünstig, denn das Virus ist nur für die Schweine gefahrbringend. Einen analogen Fall haben wir mit dem gelben Fieber. Der als spezifisch angesehene *Bacillus* war gegenüber Ratten, Mäusen, Katzen und Hunden sehr virulent, und doch sind nie Erkrankungen an Gelbfieber bei den Haustieren beobachtet worden. Diese Tatsache allein hätte schon genügen können,

um Zweifel zu erwecken. Die Nebensächlichkeit des Bacillus wurde dann aber durch andere besondere Experimente klar geliefert.

Die Immunität

der Schweine gegenüber der bacillären Erkrankung läßt sich leicht erlangen durch vorsichtige Behandlung mit dem Bacillus suipestifer. Dieselbe Immunität läßt sich aber, wie ich nachwies, auch mit dem Bacillus Sanarelli erhalten. Dies kann nicht sehr befremden, agglutinieren doch die beiden Sera die beiden Bacillen wechselseitig in gleichen Proportionen, dabei soll der eine als der Erreger der Schweinepest, der andere als der des gelben Fiebers gelten.

Der anatomische Befund

bei der Schweinepest, namentlich aber bei der bacillären Infektion, ist genügend bekannt. Als ich vor 4 Jahren die Arbeit mit dem Bacillus suipestifer aufnahm, war der Zweck derselben ein rein pathologisch-histologischer, indem speziell die Lebensveränderungen untersucht wurden, und zwar im Vergleich mit dem Bacillus Sanarelli (icteroides). Sanarelli hat bekanntlich in diesen Veränderungen eine Hauptstütze gesucht für die Spezifität seines Bacillus. Das gelbe Fieber ruft außerordentlich starke Verfettungen in der Leber und anderen Organen hervor. Als Sanarelli auf seiner Suche nach dem Erreger endlich aus dem Blute Kranker einen Bacillus isolieren konnte, mußten ihm diese pathologisch-anatomischen Veränderungen als Merkmale gelten, die für den Erreger typisch waren. In der Tat erzeugte sein gefundener Bacillus diese Veränderungen in hervorragendem Maße, und zwar besonders beim Hunde, weniger bei Pflanzenfressern. Die Pathogenität war eine sehr ausgeprägte, so daß oft sehr kleine Dosen tödlich wirkten. (In einem Falle gelang es mir, eine Katze durch eine Platinöse Kultur, auf Fleisch verabreicht, in etwa 30 Stunden zu töten. Tod während der Nacht.)

In erster Linie war es mir darum zu tun, diese Verfettung experimentell zu studieren, um zu erfahren, inwieweit es sich nicht um physiologische Fettwanderung handeln könnte. Des weiteren war es natürlich sehr wichtig, den sehr nahen Verwandten oder sagen wir ähnlichen Bacillus suipestifer zu vergleichenden Untersuchungen heranzuziehen, denn von diesem letzteren wird eine Leberverfettung nicht als typisch beschrieben, meistens nicht einmal erwähnt.

Das Vorgehen Sanarellis ist noch allgemein üblich, nämlich, daß bei der Frage nach der Spezifität in erster Linie die pathologischen und anatomisch-histologischen Resultate, die durch die Infektionen mit den gefundenen Mikroben erhalten werden, mit denen verglichen werden, die bei den typischen und natürlichen infektiösen resp. kontagiösen Krankheiten bekannt sind. Werden durch die künstliche Infektion mit Reinkulturen die pathologischen Verhältnisse bis zu einem gewissen Grade getreu nachgeahmt, ist dabei der gefundene pathogene Mikrobe in sehr vielen Fällen der natürlichen und in allen mit der Reinkultur erhaltenen experimentellen Krankheiten wiederzufinden, so wird die Spezifität als erwiesen angesehen. Dadurch sind auch die von Koch aufgestellten 4 Bedingungen erfüllt. Es soll weiter unten gezeigt werden, daß dieselben nicht erschöpfend und nicht in allen Fällen anwendbar sind.

Die pathologisch-anatomischen und histologischen wie auch zum Teil die klinischen Symptome des gelben Fiebers konnten durch die Rein-

kulturen des *Bacillus Sanarelli* wieder erzeugt werden. Bei meinen vergleichenden Versuchen mit dem *Bacillus suipestifer* gelang es hingegen die gleichen Veränderungen nachzuweisen; es wäre unmöglich gewesen, bei zwei mit den verschiedenen Bacillen infizierten Tieren irgend etwas Spezifisches herauszufinden. Was die Leberverfettung anbelangt, glaube ich nachgewiesen zu haben, daß es sich in weit überwiegendem Maße um eine physiologische Fettinfiltrationserscheinung handelt. Das pathologische Merkmal hat in diesem Falle vollends im Stiche gelassen, und doch muß darauf in erster Linie abgestellt werden, wenn ein neu gefundener Mikrobe auf seine Spezifität geprüft werden soll. Auch in Bezug auf die klinischen Symptome war eine große Gleichartigkeit der Erscheinungen festzustellen, es dürfte ausgeschlossen sein, klinisch die Differentialdiagnose zu machen zwischen den experimentellen Krankheiten, die durch *Bacillus suipestifer* und *Bacillus Sanarelli* hervorgerufen werden können.

Es sei besonders hervorgehoben, daß man die pathologisch-anatomischen und histologischen sowie die klinischen Symptome, die man bei experimentellen Infektionen mit *Bacillus suipestifer* erhält, in gleicher Weise auch durch den *Bacillus Sanarelli* erhalten kann. Dabei wird niemand bestreiten wollen, daß die beiden Bacillen aus dem Körper und Kadavern von Kranken isoliert werden, deren Krankheiten miteinander nichts gemein haben. Die Tatsache dieser Uebereinstimmung ist gewiß sehr auffallend.

Epidemiologisches.

Vom epidemiologischen Standpunkte aus hat die Frage der Spezifität sicherlich eine wichtige Stütze zu erhalten, denn die Art und Weise, wie sich eine Krankheit ausbreitet, hängt doch mehr oder weniger zusammen mit der Natur des Erregers. Bei der Betrachtung der Art und Weise, wie eine Infektion mit Schweinepest zu stande kommt, hat sich die Annahme als sicher eingebürgert, daß die Mehrzahl der Fälle durch enterale Infektion, mit verunreinigtem Futter etc., zu stande komme und daß dann auf diesem Wege die Krankheit um sich greifen könne. Diese Ansicht versuchsweise zugegeben, sei sie verglichen mit anderen Krankheiten, die nachgewiesenermaßen diesen Infektionsmodus zeigen. Da kommen in erster Linie die Cholera asiatica und dann besonders der Typhus und einige ähnliche Erkrankungen (Dysenterieen) Norditaliens in Betracht. Diese enteralen Infektionskrankheiten des Menschen haben unter sich eine große epidemiologische Aehnlichkeit sowohl in Bezug auf Infektionsart als auch auf den Ausbreitungsmodus. Eine Kontagiosität im eigentlichen Sinne des Wortes kommt nicht vor, es handelt sich vielmehr um multiple Infektionen per os, die unter sich unabhängig sind (accidentelle Infektion ausgeschlossen). Namentlich bei Typhus liest man von einer Wasserleitungsepidemie, Flußepidemie, Milchepidemie etc., die Epidemien sind abhängig vom hygienischen Zustande der Lokalitäten. Durch die genannten Vehikel ist die Uebertragung gegeben, und oft ist so der Weg gefunden worden, der scheinbar zusammenhanglos zum stundenweiten entfernten Herde führt, wo durch Urin und Defäkation eines Typhuskranken die Epidemie geschaffen wurde. Die Keime vermögen also auf große Distanzen im Wasser etc. transportiert, Seuchen hervorzurufen.

Die biologischen Eigenschaften des *Bacillus suipestifer* sind

in dieser Hinsicht Punkt für Punkt mit den Erregern obiger Krankheiten zu vergleichen. Was den Typhus anbelangt, ist die Ähnlichkeit der Erreger noch weitgehender, es sei an die Morphologie der beiden erinnert, an die Färbung, an das Fehlen der Indolbildung, der Milchgerinnung, das Verhalten in Lackmusmolke, auf Gelatine, die Resistenz gegen äußere Einflüsse, die Pathogenität und namentlich den angenommenen Infektionsmodus. Infolgedessen dürfte auch zu erwarten sein, daß der epidemiologische Verlauf der Schweinepest Ähnlichkeit mit den obigen aufweise. Dieses ist aber nicht der Fall.

Bei der Schweinepest ist meines Wissens in keinem Falle ein typhusähnlicher Verlauf der Seuche bekannt, und doch sollte man dies in hervorragendem Maße erwarten dürfen. Namentlich was die Uebertragung der Krankheit durch das Wasser anbelangt, muß es doch auffallen, daß sich die Seuchen epidemiologisch nicht dem Typhus ähnlich verhalten, da bei der Schweinepest in dieser Beziehung die Verhältnisse sehr günstig liegen. Die in den Züchtereien üblichen Badeeinrichtungen, die Suhlen, müßten die Hauptgefahr für die Ausbreitung der Pest sein. Ist in einer Zucht die Pest ausgebrochen, so werden die Suhlen sicher infiziert werden und das abfließende Wasser müßte, ähnlich wie bei Typhus, noch auf Stunden Entfernung eine neue Epidemie erzeugen können. Dieser Weg der Verbreitung scheint aber nicht konstatiert zu sein, wenigstens erwähnt Rohde-Schmidt in seinem Handbuch der Schweinezucht diesen Punkt mit keinem Worte. Auch bei der Behandlung der Hygiene des Wassers, bei der Errichtung der Suhlen ist in dieser Hinsicht nichts zu finden. Ebenso schweigen sich in dieser Hinsicht die Hygieniker aus.

Trotzdem also bei der Schweinepest der angebliche Erreger mit dem angenommenen natürlichen enteralen Infektionsmodus epidemiologische Ähnlichkeit mit der Typhusepidemie erwarten läßt, wird irgend welcher Nachweis einer solchen Verbreitungsart meines Wissens nicht geführt, ja nicht einmal erwähnt. Diese Tatsache ist zwar an und für sich nicht beweisend dafür, daß der *Bacillus suipestifer* die Pest nicht hervorrufen könne. Die Beobachtung gewinnt aber an Gewicht, wenn die Verbreitungsart der Pest ins Auge gefaßt wird.

Die Gefahr für die Ausbreitung der Pest liegt im Handel und Import der Schweine. Dies wird namentlich von Galtier (*Maladie contagieuse*, p. 1220) sehr klar ausgesprochen, auch Rohde, Friedberger und Fröhner u. A. äußern sich in gleicher Weise. Damit wird aber eingeräumt, daß zur Entstehung einer Epidemie die Gegenwart eines kranken Tieres notwendig ist, von dem aus sich dann die Krankheit auf fast alle Tiere des Bestandes ausdehnt. Es drängt sich dabei für die Ausbreitung die Wichtigkeit einer Berührung mit einem kranken Tiere auf, die Krankheit erscheint als kontagiös und nicht etwa nur infektiös.

Die eine Möglichkeit einer Verbreitung durch den vom Tier isolierten Erreger, etwa durch das Wasser, Personen, Gegenstände, wird nicht erwähnt. Es kann die Ansicht nicht geltend gemacht werden, der *Bacillus suipestifer* verhalte sich anders als der *Bacillus typhi*, denn was die Resistenz gegen äußere Einflüsse anbelangt, dürften beide gleichwertig sein. Namentlich ist nachgewiesen, daß der *Bacillus suipestifer* sich sehr lange im Wasser erhalten kann, es sind zu seiner Erhaltung nicht einmal die oft genannten Molkereirückstände notwendig. Diese letztere Annahme müßte übrigens der Schweinepest

einen noch viel ausgeprägteren endemischen Charakter aufprägen, es würde sich um multiple und wiederholte Infektionen im gleichen Gehöfte handeln müssen, da ja die verabreichten Rückstände nicht mehr in den Handel kommen.

Erwähnung verdient in dieser Hinsicht ebenfalls die gewiß nicht außer acht zu lassende natürliche Resistenz der Schweine gegen enterale Infektionen. Die Lebensweise der Tiere, die oft bevorzugte ekelhafteste Nahrung (Defäkationen etc.), die in der Freiheit oft aufgenommen wird, die häufig sehr zu wünschen übrig lassenden hygienischen Verhältnisse, namentlich was das Wasser anbelangt, lassen auf eine gewisse beträchtliche Widerstandsfähigkeit der Tiere schließen. Dies kann schon aus der Beobachtung erhellen, daß bei kleinen Dosen selbst sehr virulenter Kulturen von *Bacillus suispestifer* ein letaler Ausgang nicht erfolgt, sobald die Infektion per os versucht wird. Und was wir eine kleine Dose Kultur nennen, ist doch schon eine ganz beträchtliche Menge Keime, denn in 1 ccm Bouillonkultur, die etwa 24 Stunden gezüchtet wurde, verabreichen wir sicher über 5 Milliarden Keime und zwar lebende Keime. Wieviel Keime mögen in $\frac{1}{2}$ l Kultur enthalten sein, wie ihn Lourens verabreicht? Man wird mir vorwerfen, daß die Schweine doch nicht sehr selten an Magendarmkrankheiten leiden; dies zugegeben, wäre doch noch sehr zu entscheiden, ob die Ursache davon meist nicht diätetischer Natur ist, wobei die bakterielle Ursache erst in zweiter Linie kommt. Während beim Typhus nachgewiesenermaßen eine sehr geringe Menge Bakterien genügt, um die Krankheit hervorzurufen, sei es infolge accidenteller oder natürlicher Infektion per os, so wird bei der Schweinepest die Applikation von bedeutenden Mengen Keimen oft ohne wesentliche Reaktion ertragen. Salmon und Smith haben, auf dieser Tatsache fußend, sogar versucht, Tiere auf diesem Wege aktiv zu immunisieren, da sie fanden, daß kleine Kulturmengen verfüttert leicht ertragen wurden. Merkwürdigerweise gelang die Immunisierung nicht, man dürfte das Gegenteil erwarten, da der gleiche *Bacillus* doch die Krankheit erzeugen soll, allerdings erstreckte sich die Immunisierung nur auf den *Bacillus* und nicht gegen das Virus. Wie soll denn da überhaupt eine spontane Infektion per os zu stande kommen, wenn eine so große Zahl Keime notwendig ist. Und diese Keimzahl muß ja innerhalb sehr kurzer Zeit verabreicht aufgenommen werden, würden sie sich auf längere Zeit erstrecken, etwa mit einem infizierten Wasser, so müßte, wie die Experimente zeigen, öfter eine Immunisierung eintreten, die auf diesem Wege nicht schwer zu erhalten ist.

Man könnte ja sagen, daß bei der natürlichen Infektion keine Isolierung und Kultur eingeschaltet sei und daß diese Manipulationen dazu beitragen, daß eben größere Mengen zur Infektion notwendig seien. Um diesen Einwand zu prüfen, machte ich die Sektion eines an bacillärer Schweinepest zu Grunde gegangenen Ferkels ohne jede Vorsicht im Stalle, wo sich noch andere Schweine befanden und späterhin sich aufhielten. Bei der Sektion wurde kein Desinficiens angewendet und mit der größten Unsauberkeit in Bezug auf Beschmierung des Bodens umgegangen. Der Kadaver wurde erst liegen gelassen und ebenso die Eingeweide, um ja den Bacillen Zeit zu geben, sich in den Fugen einzunisten. Trotz meiner Befürchtung, daß dieses sehr rohe Experiment (ausgeführt mit Kultur von Král) nun doch zu weiteren Infektionen Anlaß geben werde, geschah dies nicht. Versuchsschweine haben seit 2 Jahren sich dort ungestörter Gesundheit in Bezug auf Schweine-

pest erfreut. Dieser Versuch wurde nach Publikation meiner Arbeit über den Bacillus suipestifer ausgeführt, da ich obigen Einwand, dem ich Berechtigung nicht absprechen konnte, befürchtete. Daß die für den Versuch verwendete Kultur nicht avirulent war, bezeugt schon der erfolgte Tod des ersten Versuchsschweines und die Protokolle früherer Versuche.

Damit ist ein **erneuter negativer Versuch** gemacht, die Schweinepest unter natürlichen Verhältnissen mit dem Bacillus als Seuche zu verbreiten.

Selbst wenn sich unter solchen Verhältnissen etwa ein einzelnes Schwein infizieren und erkranken sollte, so ist damit noch lange nicht die Berechtigung gegeben, in diesem Falle einen Beweis für die Bacillentheorie erbracht zu haben. Daß gelegentlich eine sehr kleine Kultur in sehr kurzer Zeit ein Schwein krank machen und sogar töten kann, ist eine erwiesene Tatsache. Selbst Lourens gibt einen unbewußten Beweis, indem ein Ferkel schon nach 50 Stunden einging (p. 641 l. c.). Es muß unter allen Umständen verlangt werden, daß eine künstliche Seuche mit dem Bacillus hervorgebracht worden sei. Zu diesen Experimenten eignen sich aber Laboratorien wenig, wo Schweineorgane zur Prüfung auf Schweinepest aus der Praxis erhalten werden. Ueberhaupt ist eine Gegend, in der die Pest spontan beobachtet wird, ungünstig, da jedem Experimente die Frage vorgeworfen werden kann, wie der noch unbekannte Erreger ausgeschlossen worden sei.

Bei dem gelben Fieber hat sich ein Moskito als Vermittler herausgestellt, und wenn zur Zeit der damaligen Bacillenlehre Experimente gemacht wurden, die peinlich jeden Kontakt der Versuchsmenschen mit infiziertem Materiale verhindert haben, um nicht den Einwand einer natürlichen Infektion zu erlauben, so wurde eben den Moskitos keine Aufmerksamkeit geschenkt, die sicher gegebenenfalls die Krankheit trotz aller Desinfektion übertragen hätten. Bei dem obigen Versuche wurde durch Zukauf von Ferkeln darauf Rücksicht genommen, daß sich die Krankheit seuchenartig hätte kundgeben können.

Die Kontagiosität ist für die bacilläre Schweinepest in keinem Falle einwandfrei nachgewiesen, und es dürfte schwer halten, diesen Nachweis zu erbringen. Andere Erkrankungen, die ihre Ursache in einem dem Bacillus suipestifer ähnlichen Bacillus haben, sind wohl infektiös, aber nicht kontagiös. Der Paratyphusbacillus, die Dysenteriebacillen, der Mäusetyphus und andere erzeugen Krankheiten, die kleine Seuchen hervorrufen können, die aber alle ihren gemeinschaftlichen Ursprungsherd haben, wie er typisch bei gewissen Fleischvergiftungen (durch Bacillus enteritidis) charakterisiert ist.

Die Mäuse- und Rattentyphusbacillen verhalten sich ebenso, die praktische Erfahrung zeigt, daß ein seuchenartiges Auftreten dieser Krankheiten nicht stattfindet bei der Infektion einer einzigen Maus oder Ratte, es handelt sich hier um ein den Ratten allerdings angenehmes und vorerst ohne Verdacht aufgenommenes Gift, das aber versagt, sobald die Tiere, durch Erfahrung gewitzigt, von den Brocken nichts mehr annehmen.

Es ist anzunehmen, daß nicht nur der Bacillus suipestifer, sondern alle Bacillen der Hogcholera-Gruppe einschließlich der Paratyphusgruppe unfähig sind, Krankheiten mit kontagiösem Charakter zu erzeugen.

Mikrobiologisches.

In erster Linie wären hier die Resultate von Lourens betreffend die Filtrierbarkeit des *Bacillus suipestifer* (und des *Bacillus typhi*) zu erörtern.

In erster Linie scheint es sehr merkwürdig, daß nun auch der *Bacillus typhi* zu den Keimen gehören soll, die filtrierbar sind. Gewiß ist an den positiven Resultaten nicht zu zweifeln; aber wenn es sich so verhalten würde, dann könnte man doch füglich von der geübten Praxis lassen, das Trinkwasser zu filtrieren, und doch scheint gerade diese Filtration ein sehr gutes Prophylaktikum gegen Typhus zu sein, da natürlich, wo die Epidemie durch das Wasser droht.

Unter den Filtrierpapieren für chemische Zwecke wird angegeben, daß eine bestimmte Marke einen vorschriftsmäßig behandelten Niederschlag von Bariumsulfat zurückhalte. Dies trifft aber nur dann zu, wenn der gut behandelte Niederschlag in einem gewöhnlichen Trichterchen filtriert wird. Als ich einst versuchte, die Waschung des Niederschlages dadurch etwas zu beschleunigen, daß das Trichterröhrchen verlängert wurde, gingen von dem sonst glatt zurückgehaltenen Niederschlage wägbare Mengen durch. Gewiß hat in diesem Falle der ein wenig erhöhte Druck durch das angesetzte Saugröhrchen den Durchgang veranlaßt, denn er bleibt wieder aus, wenn dieser Druck von nur etwa 0,05 Atmosphären wieder ausgeschaltet wird. Dies zeigt sehr deutlich den wesentlichen Einfluß des angewandten Druckes auf die Filtration, so deutlich vielleicht, wie kein anderer Versuch.

Da Lourens keine Angaben macht über die Art und Weise der Filtration, so ist es schwer zu beurteilen, ob nicht vielleicht sehr hohe Drucke angewendet wurden. In diesem Falle wäre das Resultat zu erklären. Daß die anderen Forscher bisher die Passage des *Bacillus* sollten übersehen haben, scheint nicht sehr wahrscheinlich. Daß die Filtration nicht unter den gleichen Bedingungen ausgeführt wurde wie von den anderen Forschern, scheint schon daraus hervorzugehen, daß (Lourens, l. c. p. 638) Dorset, Bolton und Mc Bryde eine langsame Filtration des Serums beobachteten, während Lourens in etwa 15 Minuten leicht 500 g und mehr unverdünntes Serum filtrierte. Diese Tatsache scheint mir sehr wichtig zu sein, denn sie läßt vielleicht den Schluß zu, daß unter der Versuchsanordnung der amerikanischen und anderer Forscher tatsächlich keine *Bacillen* durchgegangen sind, während die sehr rasche Filtration von Lourens immerhin sehr geringe Mengen durchließ. Meine Erfahrungen erstrecken sich allerdings nur auf den *Bacillus Sanarelli*, ein Filtrieren desselben habe ich aber nicht beobachten können (bei einer Atmosphäre Druck).

Es dürfte in diesem Falle aber doch außerhalb des Zweckes der Versuche sein, Bedingungen zu schaffen, unter denen ein Durchgang stattfindet, im Gegenteil hat doch die Filtration gerade den Zweck, die Keime unter allen Umständen zurückzuhalten.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Experimentelle Beiträge zum Studium der Syphilis.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie und der dermatologischen Klinik der Universität Straßburg.]

Von **J. Schereschewsky**, Moskau.

Tierexperimente.

Nachdem 1873 Nicolle und später Klebs (1879), Neumann (1882), Martineau und Hamonic, Sperr (1886) von Uebertragungen der Syphilis auf Affen berichtet hatten, wurden solche Befunde noch immer angezweifelt (Mossé, Krishaber, Fournier und Bartholémy), bis endlich 1903 Metschnikoff und Roux an einem weiblichen Schimpansen die Luesüberimpfung sicherstellten, wie durch die Nachprüfungen von Nicolle, Hamonic, Lassar, Neisser, Kraus, Finger und Landsteiner bestätigt wurde. Als bald gelang es Finger und Landsteiner, auch niedere Affen zu infizieren, wodurch die Experimentfähigkeit der Syphilis beträchtlich erweitert wurde.

An der Hand dieser denkwürdigen Entdeckung zeigte Hoffmann, daß Blut von Luetikern, die sich in der 6.—7. Woche nach der Infektion befinden, überimpfbar ist. Finger und Landsteiner entschieden die Stellung des Gumma zur syphilitischen Infektion, indem sie das lebensfähige Gewebe aus dem Randinfiltrat des Gumma mit Erfolg übertragen konnten. Dieselben Autoren erhielten auch durch Sperma von Syphilitikern positive Impfeffekte. Als virulentes Luesmaterial zeigten sich weiterhin Organe von kongenital-luetischen Kindern (Neisser), hingegen konnten Milch (Finger und Landsteiner) und Serum (Neisser) bisher nicht mit Erfolg überimpft werden. Weiter zeigte das Tierexperiment, daß Reinfektionen in allen Perioden der Syphilis möglich sind, womit der Ricordsche Satz hinfällig geworden ist.

Das Auftreten von Sekundärererscheinungen ist bei anthropoiden Affen fast immer der Fall, hingegen zeigen niedere nach Finger und Landsteiner selten an den Initialstellen sich einstellende Papeln; Metschnikoff berichtet über Befunde an 120 niederen Affen, die ausschließlich mit Primäraffekten auf die Impfung reagierten. Was nun weitere Konsequenzen der Tierimpfung, die Prophylaxe und Therapie der Lues betrifft, so sind die Schlüsse über diese Punkte nicht eindeutig; so viel ist aber aus den Untersuchungen Metschnikoffs zu entnehmen, daß eine Kalomel-Lanolin salbe von 33 $\frac{1}{3}$ Proz., bis zu 6 Stunden nach der Syphilisimpfung auf die Inokulationsstelle verrieben, den Ausbruch des Primäraffekts, sowie weitere syphilitische Erscheinungen zu verhindern imstande ist.

Versuche, die Syphilis auch auf andere Tiere zu übertragen, liegen für Schweine von Martineau, Adrian, Hügel und Holzhäuser, für Kaninchen von P. Haensell, Bertarelli, Greef und Clausen, Scherber, Tomaszewsky u. s. w. vor.

Eine nähere Schilderung des großen Tatsachenmaterials über den in Rede stehenden Punkt entspricht nicht dem Rahmen vorliegender Arbeit; wir verweisen daher auf die einschlägige Literatur.

Unsere Tierversuche wurden an Affen, Schweinen und Kaninchen vorgenommen.

Für die gemeinsam mit Dr. Hügel an der Wolffschen Klinik ausgeführten Affenimpfungen verwendeten wir *Macacus rhesus*, eine Species, die sich auch uns als für Lues gut empfänglich erwies und sich den klimatischen Verhältnissen relativ gut anpaßte. Als geeignetes Futter zeigten sich kondensierte Milch mit gekochtem Wasser verdünnt, gekochte Kartoffeln sowie rohes Obst und Zucker.

Die Impfung wurde in der Brauengegend nach Anlegen von tieferen Skarifikationen oder Täschchen mit exzidiertem Papel oder Geschabe von einem Primäraffekt durch Verreiben im Laufe von ca. 2—3 Minuten vorgenommen. Es traten konstant nach 15—18 Tagen an den Impfstellen Erscheinungen auf, die ihrem ganzen Verhalten, ihrer Konsistenz, Aussehen, Spirochätenbefunde etc. nach als ausgesprochene syphilitische Primäraffekte sich dokumentierten.

Bei einem *Macacus rhesus* sahen wir das Auftreten sekundärer Erscheinungen in Form eines tubero-circinären Syphilids des Oberschenkels. Für das Zustandekommen dieser Sekundärerscheinungen könnte eventuell eine stattgehabte Serumbehandlung angeschuldigt werden; dieses soll hier näher besprochen werden. Die Impfung des *Macacus* wurde in erwähnter Weise in der Brauengegend vorgenommen und sogleich nach dem Auftreten des Primäraffekts wurde ein Serum von einem Sekundärsyphilitiker, der erscheinungslos geworden war und sich inmitten einer Hg-Behandlung befand, subkutan in Gaben von 4—5 ccm appliziert.

Es folgt das Protokoll:

26. Nov. 1907. *Macacus rhesus* No. 4. Inokulation in der Brauengegend mit spirochätenreichem Primäraffekt vom Menschen.

Macacus rhesus No. 6. In gleicher Weise wie No. 4 mit nässender Papel vom Menschen.

2. Dez. Impffekte bei No. 4 und 6 vollkommen verschwunden.

10. Dez. No. 4 und 6. Impfstellen sind leicht erodiert.

14. Dez. No. 4 zeigt blutig-seröse Exsudation an der erodierten und etwas harten Impfstelle.

17. Dez. No. 4 und 6. Erhabene Erosionen mit Borkenbildung.

21. Dez. No. 4 und 6. Typische Primäraffekte an den Impfstellen. In den Ausstrichen *Spirochaete pallida*.

28. Dez. No. 6. Bestehen eines ausgebildeten Primäraffekts. Applikation von 3 ccm Luetikerserum (Patient erscheinungslos; hat 22 Hg-Spritzen erhalten).

2. Jan. 1908. No. 4. Bestehen eines fortgeschrittenen Primäraffekts.

No. 6. Nach 13 ccm Serum subkutan: Deutliches Abblassen und Flachwerden der Initialerscheinungen.

4. Jan. No. 4. Ausgeprägte Sklerosen.

No. 6. Nach 16 ccm Serum: Weiteres Verblassen der Erscheinungen.

6. Jan. No. 4. Die Läsionen werden flacher und schorfig.

No. 6. Nach 10 ccm Serum erscheinen die Impfstellen völlig blaß.

8. Jan. No. 4. Rückgang der Erscheinungen.

No. 6. Auftreten von intensiven dunkelroten, größeren Effloreszenzen an den Impfstellen.

18. Febr. No. 6. Nach Applikation von 30 ccm Serum:

Auf der Innenseite des Oberschenkels finden sich vier pfenniggroße und rundliche Herde gruppiert. In der Peripherie dieser nicht charakteristisch zusammentreffende, miliare, rötliche Infiltrate. Im Zentrum dieser Effloreszenzen nicht eben ausgesprochene Neigung zu oberflächlicher Schuppung. Die oben genannten größeren Herde erscheinen zusammengesetzt aus stecknadelkopfgroßen Papeln und bilden gegenüber der gesamten Haut eine deutliche Absetzung. Im Zentrum sind involutive Vorgänge charakteristisch. — Exanthema papulo-circinarium specificum m.

Im Ausstrich konnten Spirochäten nicht nachgewiesen werden; solcher Nachweis mißlang uns auch bei vielfachem Untersuchen von entsprechendem Exanthem beim Menschen.

Ob nun dieses papulo-circinäre Exanthem durch das verabreichte Serum provoziert worden ist, muß noch durch weitere Kontrollversuche sichergestellt werden, so viel läßt sich eben schon erwägen, daß 1) das Tier No. 4, welches in gleicher Weise beimpft wurde und kein Serum erhielt, bisher keine weiteren Symptome außer den Initialerscheinungen zeigte; 2) sind Sekundärerscheinungen bei *Macacus rhesus* sehr selten und pflegen an den Initialstellen aufzutreten; weiter sind die schon erwähnten 120 niederen Affen von Metschnikoff zu nennen, die nur Primäraffekte zeigten; 3) beobachteten wir mit Eisenzimmer nach Verabreichung gleichartigen Serums an Syphilitischen mit Sekundärerscheinungen eine deutliche Steigerung letzterer, eine Steigerung, die von dem spontanen Verlauf wohl zu unterscheiden war; 4) zeigte das betreffende Serum eine gleichsam sensibilisierende Wirkung, indem es bei ca. 10 Fällen von unbehandelter sekundärer Lues, auf die Haut in der Weise der v. Pirquetschen Reaktion gebracht, minimale Papelbildung zeigte. Ueber diese Versuche eine Cutisreaktion bei Lues sind mir vorläufig eingehende Schilderung, geschweige denn Schlüsse, nicht möglich, der Eindruck konnte jedoch gewonnen werden, daß dem Serum eines Sekundärsyphilitischen nach Abklingen der Erscheinungen eine sensibilisierende Wirkung zukommt, die zwar äußerst geringe, jedoch wohl unterscheidbare Effekte darbietet.

Unseren mit Dr. Fornet gemachten Syphilisserumuntersuchungen zufolge würde das hier verwendete Serum von erscheinungslosen Sekundärsyphilitikern als syphilisantistoffhaltig anzusehen sein, während die floride, nichtbehandelte Lues das entsprechende Antigen im Serum aufweisen müßte. Verwandte ich dementsprechend das Serum von florider, nichtbehandelter Lues für eine Cutisreaktion bei erscheinungslosen Fällen, so bekam ich wiederum die erwähnten, ganz minimalen Papelbildungen auf der Haut 3—8 Tage nach Verreiben des Serums auf eine mit Franquetscher Nadel gesetzte Skarifikation. Wenige Kontrollen, die ich Gelegenheit fand durchzuführen, blieben negativ, der traumatische Effekt war am nächsten Tag kaum wiederzufinden.

Dieses nenne ich hier nur zum Punkt 4, um zu zeigen, daß die Serumwirkung eventuell für das Auftreten des papulo-circinären Exanthems beim Affen anzuschulden ist.

Weiterhin studierten wir an einem anderen Affen die intraorganäre Syphilisinfektion. Zu diesem Zwecke nähten wir eine exzidierte nässende Papel vom Menschen unter die Scrotalhaut, nachdem wir den Hoden bis auf das Parenchym eröffnet hatten. 5 Tage nach Implantation der Papel wurde durch Punktion ein eitriges Exsudat gewonnen, in welchem sich in erheblicher Anzahl typische *Spirochaetae pallidae* nachweisen ließen.

Da hier die Spirochätenanzahl diejenige des Ausgangsmaterials überstieg und noch die Verdünnung durch das Exsudat in Betracht kam, mußten wir hier eine Propagation der *Spirochaete pallida* annehmen. Der weitere Verlauf war folgender: Die Implantationsstelle imponierte als hartes Knötchen und zeigte nach 2 Monaten an der Hautschnittstelle eine pfenniggroße, papelartige Erosion. Das exzidierte Knötchen zeigte im histologischen Präparat kleinzellige Infiltration mit eingestreuten Riesenzellen vom Typus der Langhansschen Zellen und

kann histologisch einem syphilitischen Affekt entsprechen. Ganz analoge Befunde hatten wir bei Implantation von Papel in einen Schweinehoden. Im eitrigen Exsudat ließen sich nach 3 Tagen zahlreiche Spirochäten nachweisen. Das Exsudat wird später weniger eitrig und die Spirochäten erscheinen zahlreicher. Nach 8 Tagen sahen wir eine erhebliche Exsudatbildung mit massenhaften Spirochäten, von denen ein Teil gestreckte Formen zeigte, ein anderer dem *Pallida*-Typus entsprach. An dieser Stelle möchte ich noch kurz über das Auftreten von kleinpapulösem Exanthem bei einem 8 Wochen alten Schwein berichten. Unter die Haut des Schweines wurde eine syphilitische Papel vom Menschen eingenäht. Nach Abheilen der Reizerscheinungen verblieb ein hartes Knötchen unter der Haut an der Implantationsstelle. Nach 36 Tagen sah man am ganzen Körper des Tieres kleinlinsengroße Effloreszenzen, die ihrem ganzen Verhalten nach als syphilitische Papeln anzusprechen waren und eine Woche lang persistierten, ohne sich erheblich zu vermehren.

Unsere Versuche, die Syphilis auf Kaninchen zu übertragen, die gemeinschaftlich mit Fornet ausgeführt wurden, sind nicht zahlreich, enthalten jedoch einige neue Momente, die ich hier kurz schildern will. 2 Kaninchen wurden mit gleichem Material (Papeln), nach Skarifikation der Scleren am Cornealrande geimpft.

Bis nach 2 Monaten zeigten die geimpften Augen keinerlei Veränderungen. Nach 3 Monaten fand sich bei einem der Tiere eine diffuse Trübung der Hornhaut, mit eingesäten Körnchen. Herr Prof. Schirmer hatte die Freundlichkeit, das Auge zu begutachten und bestätigte das Vorliegen einer Keratitis parenchymatosa. Nach vorgenommener Enukleation und Abtrennung der Hornhaut wurden mit letzterer weitere 2 Kaninchen beimpft. Das eine Kaninchen, welchem die affizierte Cornea auf die Scleren verimpft wurde, zeigte nach 8 Tagen an der Impfstelle eine geschwürige, infiltrierte und indurierte Erhabenheit, aus welcher sich im Ausstrich typische *Spirochaetae pallidae* isolieren ließen. Nach 2 Tagen vorgenommene Abkratzung und Untersuchung im Ausstrich ergab ebenfalls positiven Spirochätenbefund. Nach weiteren 4 Tagen erscheint die Läsion in Rückbildung begriffen, es zeigt sich an dem anliegenden Cornealrande eine geringe, einstrahlende Trübung. Spirochäten sind nicht mehr nachweisbar.

Diesen Befunden ist zu entnehmen, daß man auch durch Beimpfen der Scleren eine parenchymatöse Keratitis bei Kaninchen erzeugen kann, die bei gleichartiger Weiterimpfung derart für das Kaninchen an Virulenz zugenommen sich präsentiert, daß die Inkubationszeit von 3 Monaten auf 8 Tage zu sinken vermag, und an der Kaninchensclera in Form einer spirochätenhaltigen Affektion zu haften vermag.

Schlusssätze.

- 1) Auch bei niederen Affen können außerhalb der Inokulationsstellen Sekundärerscheinungen auftreten.
- 2) Das Auftreten dieser Sekundärerscheinungen kann eventuell durch Verabreichen von Serum eines erscheinungslos gewordenen Sekundärsyphilitischen stimuliert werden.
- 3) Unter der Scrotalhaut des Affen wie des Schweines kann durch Implantation von spirochätenhaltigem syphilitischen Material eine Vermehrung der *Spirochaete pallida* erzielt werden.
- 4) Das Schwein ist für Syphilis empfänglich.

5) Die Beimpfung der Kaninchenscleren gibt in einigen Fällen Veranlassung zu einer Keratitis parenchymatosa specifica.

6) Mit syphilitischer Kaninchencornea beimpfte Kaninchenskleren zeigen nach kurzer Inkubation (ca. 8 Tagen) spirochätenhaltige Affektionen an der Impfstelle mit angedeuteter Trübung der angrenzenden Cornealpartie.

Untersuchungen über die *Spirochaete pallida*.

Das zweite Kochsche Postulat, die Reinzüchtung der *Spirochaete pallida*, ist seit dem 3. März 1905, dem Tage ihrer Entdeckung durch Fritz Schaudium, offen geblieben. Demgegenüber liegen große Reihen von Untersuchungen vor, die eine ätiologische Bedeutung der *Spirochaete pallida* für die Syphilis recht wahrscheinlich machen. Mühlens zeigte neuerdings an der Hand vergleichender Spirochätenstudien, daß die *Spirochaete pallida* von anderen verwandten Formen wohlunterscheidbar ist. Ihre Anwesenheit in der Tiefe des Gewebes, im Blute und in den Organen kongenitaler Lues wurde durch Paschen, Buschke und Fischer, Wolters, Raubitschek, Noeggerath und Staehelin, Babes und Panea sichergestellt. Weiterhin sieht man die *Spirochaete pallida* bezüglich ihrer Anordnung in den pathologischen Veränderungen, in den Bindegewebs- und Gefäßerkrankungen eine der Erkrankung entsprechende histologische Lagerung einnehmen. Bei Syphilisspätformen — dem Gumma — konnte aus dessen Randzone durch Doutrelepont, Grouven und Tomaszewsky die *Spirochaete pallida* isoliert werden. Endlich spricht für die ätiologische Bedeutung der *Spirochaete pallida* noch der von Metschnikoff und Roux geführte Nachweis der Pallida in den Läsionen der experimentellen Affensyphilis. Die vielerörterten und zur Genüge zurückgewiesenen Zweifel an der Bedeutung der *Spirochaete pallida* gehen von Siegel, Schultze, Saling und Jancke aus, welch letztere den Siegelischen Cytoryctes luis der Pallida gegenüberstellen. Das Wesen des Cytoryctes ist bisher ungeklärt; nach Noeggeraths Meinung handelt es sich wahrscheinlich um ein Zerfallsprodukt des Blutes. Die theoretisch interessante Frage nach der Zugehörigkeit der *Spirochaete pallida* zu den Protozoen oder Bakterien wird von dem Entdecker und von v. Prowazek zugunsten der Protozoen beantwortet. v. Prowazek argumentiert die Nichtzugehörigkeit der Pallida zu den Bakterien durch: 1) ihr Verhalten gegenüber einigen Reagentien (taurocholsaures Natrium, Saponin); 2) ihre morphologische Struktur (Flexibilität, undulierende Membran); 3) die Längsteilung und 4) das Ruhestadium (keine Sporenzustände).

Was nun die Darstellung der *Spirochaete pallida* anbetrifft, so geschieht dieses im lebenden Zustande mittels Dunkelfeldbeleuchtung, oder mit der Mandelbaumschen Vitalfärbung; im Ausstrich mit Giemsa-Lösung und im Schnitt durch Silberimprägnation nach Levaditi, Bertarelli und Volpino, oder auch mit Giemsa-Lösung nach Schmorl. Mit diesen gut fundierten Färbemethoden ließ sich die *Spirochaete pallida*, wie erwähnt, in sämtlichen syphilitischen Erscheinungen nachweisen; es bleibt jetzt noch immerhin die entscheidende Reinzüchtung der Pallida und damit erzeugte Syphilis als unumgänglich zu erbringender Beweis für die Ätiologie der *Spirochaete pallida*. Einen bedeutenden Fortschritt nach dieser Richtung brachten die neuerdings von Levaditi und McIntosh mitgeteilten Züchtungs-

versuche. Diese interessanten Versuche seien hier kurz mitgeteilt: Kollodiumsäckchen mit auf 60° erhitztem (inaktivem) Menschenserum wurden mit spirochätenhaltigem Material von syphilitischer Affektion beimpft und durch Laparotomie ins Peritoneum eines Affen gebracht. Von dem Gedanken geleitet, daß die Entwicklung der Spirochäten im Kollodiumsäckchen eines gleichen Zeitraums bedürfen, welcher dem Zustandekommen des Primäraffekts nach Impfung des Affen entspricht, wurde das laparotomierte Tier gleichzeitig inokuliert. Nach 23 Tagen zeigte sich beim Affen der Primäraffekt und in den Kollodiumsäckchen ein reiche Wachstum von Spirochäten vom Typus der Pallida. Das so erhaltene Wachstum ließ sich weiter auf Kaninchenserum überimpfen und im Kaninchenperitoneum in je 5 Tagen fortzüchten; dabei zeigte sich jede solche weitere Passage immer reicher an Spirochäten, da sich letztere successive an das Medium anpaßten. Levaditis „Kulturen“ erschienen stets verunreinigt; Kokken und anaerobe Bakterien waren konstante Begleiter der „Kulturen“ und ließen sich auf keine Weise entfernen, ja, schienen sogar das Wachstum der Spirochäten günstig zu beeinflussen. Dieses Spirochätenwachstum erwies sich als nichttierpathogen und passierte den Filter nicht, Formveränderungen wurden nicht beobachtet, die Spirochäten behielten stets ihre Windungen bei.

Wenn nun diese Versuche auch dem eigentlichen Begriff einer Kultur nicht entsprechen, so bringen sie uns doch sicherlich einen großen Schritt vorwärts.

Eine weitere Frage nach dem Verhalten der *Spirochaete pallida* im Laufe der ganzen Evolution einer Keratitis parenchymatosa beim Kaninchen studierten Levaditi und Yamanouchi, indem sie ein syphilitisches Kaninchencorneafragment in die vordere Augenkammer von Kaninchen brachten und im Laufe von 32 Tagen bis zum Auftreten der Keratitis untersuchten. Dem entsprechenden Vorfinden der Spirochäte in der ganzen Inkubation entnehmen genannte Autoren, daß die Spirochäte ihre typische Form in der ganzen Zeit beibehält und daß die Inkubationsdauer auf das Anpassen der Spirochäte an die nutritiven Verhältnisse zurückzuführen sei.

So viel hätte ich, meiner Aufgabe entsprechend, aus dem übermäßigen Reichtum an Tatsachen über die *Spirochaete pallida* hier herauszugreifen, um zur Schilderung eigener Untersuchungen überzugehen.

Unsere seit dem Jahre 1906 im Forsterschen Institut fortgeführten Versuche galten in erster Linie der Züchtung der *Spirochaete pallida*. Wenngleich wir zu einer Reinkultur nicht kommen konnten, verzeichnen wir immerhin einige interessante Punkte, die hier mitgeteilt sein sollen. Bei den anfänglich komplizierten und langdauernden Färbemethoden lag das Bedürfnis nach schnellen und prompten Verfahren vor. In einer früheren Arbeit führte ich aus, wie eine intensive und schnelle Färbung mit kochend verwendeter Giemsa-Mischung (18 Tropfen Giemsa-Lösung auf 10 ccm 0,5-proz. Glycerinlösung) erzielt wird, wenn die Präparate kapillär ausgestrichen und über Osmiumsäuredämpfen fixiert wurden. Ich setzte es auch auseinander, wie wichtig es ist, darauf zu achten, daß die verdünnte aufgekochte Giemsa-Lösung nur in von absolut minimalsten Fällungen freiem Zustande zu verwenden ist. Färbt man mit einer Mischung im Zustande der Schwebefällung, so bekommt die Spirochäte den sehr blassen Ton, der ihr Auffinden sehr schwierig macht und der Schaudinn veranlaßte, den Beinamen „Pallida“ zu

wählen. Solche „Pallidafärbung“ tritt bei stundenlangem Färben mit Giemsa-Mischung auf, die Farbfüssigkeit ist ausgefallen und die Spirochäte zeigt die Blässe, wie sie der Entdecker bei seiner Dauerfärbung erhalten mußte. Es gelingt also, die *Spirochaete pallida* in allen Farbnuancen darzustellen, von einem blassen Rosa bis zu einem tiefen Azurblau; der Beiname „Pallida“ ist deshalb keineswegs berufen, ein Kriterium bei der Differenzierung der Syphilisspirochäte von anderen Spirochäten abzugeben, vielmehr kommt ihm ein konventioneller, historischer Wert zu.

An einem großen Material, das uns der Direktor der dermatologischen Klinik in Straßburg, Herr Prof. Wolff, zur Verfügung stellte, studierten wir das Vorkommen der *Spirochaete pallida* und fanden sie mit unserer Färbemodifikation stets in großer Anzahl bei den meisten syphilitischen Affektionen vor. Auch hatten wir Gelegenheit, im Zahnbelag, bei Lungengangrän sowie bei Ulcerationen der Vaginalschleimhaut und der Analgegend, sämtlich nichtsyphilitischer Natur, Spirochätenformen zu beobachten, die neben gestreckten, atypischen Formen solche vom Pallida-Typus aufwiesen. In einigen Fällen fanden wir in nässenden Papeln neben der *Spirochaete pallida* recht oft ein Stäbchen vom Typus des *Pyocyaneus* vor, der in seiner Lagerung zu den Spirochäten eine gewisse Gesetzmäßigkeit verriet, jedoch haben wir augenblicklich keine Möglichkeit, etwas Näheres über diese scheinbare Koinzidenz auszusagen.

Was nun unsere Kulturversuche anbetrifft, so hatten wir schon oben erwähnt, daß es uns gelang, unter der Scrotalhaut von Schweinen und Affen eine Anreicherung der *Spirochaete pallida* zu erzielen. In vitro gab uns auch die Hydrocelenflüssigkeit von Menschen einige Resultate. Nach dem Vorgange der Züchtung von *Spirochaete dentium* durch Mühlens und Hartmann sahen wir im hohen Stich einer Agarascitesröhre bis zu 10 Tagen in genügender Anzahl typische Pallida-Formen. Das Wachstum des Stichkanals ließ sich jedoch nicht überimpfen und ein Nachweis der Spirochäte gelang auch nicht immer. Bessere Resultate gab reine Ascitesflüssigkeit, hoch in ein Reagenzglas gefüllt und mit einer exzidierten Papel versetzt. Hierbei konnte nach 3–13 Tagen ein reiches Wachstum von Spirochäten konstatiert werden, wobei sich nur selten typisch gewundene Exemplare fanden; die Mehrzahl zeigte alle Uebergänge von angestreckter bis zu steil gewundener Form. Da sich die Mehrzahl also als nicht „Pallida-artige“ Spirochäten zeigte, nahmen wir damals Abstand davon, unsere Züchtung auf die Pallida zu beziehen.

Ich schreite nun zur Darstellung unserer mit Fornet und Hügel gemachten Nachprüfungen der oben skizzierten Versuche Levaditis, um an der Hand dieser einige Argumente für die Wandelbarkeit der Windungen bei der Syphilisspirochäte vorzubringen, die meine Vitrozüchtungen vielleicht in ein anderes Licht zu stellen imstande sein könnte und die Stellung der *Sp. refringens* zur Palliada anders auffassen lassen würden, als es bis heute der Fall ist.

Wir änderten die Anordnung Levaditis bei unseren Versuchen, indem wir statt Kollodiumsäckchen Schilfsäckchen verwendeten und diese nicht auf Glasröhren montiert einverleibten, sondern einfach nach der Impfung den mit Serum prall gefüllten Sack abbanden. Diese Abänderungen hatten den Vorzug, daß in der Mehrzahl der Fälle die Säckchen nach 5–8-tägigem Aufenthalt in der Peritonealhöhle des Tieres

intakt blieben. Das Wiederfinden der Säckchen zwischen den Darm-schlingen ist recht leicht, da sich keine erheblichen Translokationen der Säckchen zeigen und um diese herum sich eine abgekapselte sterile Eiterung bildet. Die Versuche gestalteten sich folgendermaßen: Einem *Macacus rhesus* wurde durch Anlegen eines „Knopflochs“ in der Medianlinie des Bauches unterhalb des Nabels die Peritonealhöhle eröffnet¹⁾ und 4 beimpfte Schilfsäckchen versenkt. Die Schilfsäckchen wurden mit Menschenserum, das auf 60° erhitzt wurde, gefüllt und das hineingeimpfte Material entstammte einer nässenden Papel von einem Sekundärsyphilitischen. Um größere Mengen syphilitischen Spirochätenmaterials steril zu erhalten, bedienten wir uns folgender Methode. Vermittels einer kleinen Bierschen Saugpumpe wurden von der mit NaCl-Lösung gesäuberten und etwas lädierten Papel 1/2 Stunde hindurch reichliche Mengen Reizserum gewonnen; mit einer sterilen Kapillare läßt sich das Reizserum bequem aufsaugen und die Kapillare wird in der Flamme geschlossen.

Auf solche Weise gewinnt man eine reichliche Menge Reizserum in von Luft abgeschlossenem Raum und ist vor Verunreinigung und Absterben des Impfmateri als ziemlich gesichert. Man braucht nun beim Beimpfen der Säckchen nur das eine Ende der von außen mit Alkohol gewaschenen Kapillare abzubreaken, in das Säckchen zu versenken, um nach Eröffnen des oberen Endes steril das Reizserum einfließen zu lassen. Unser Impfmateri al enthielt im Ausstrich bei genauester Prüfung nur Spirochäten vom *Pallida*-Typus, es waren diese nicht zu zahlreich, wiesen aber keine einzige Form auf, die an *Refringens* denken ließ.

Die Säckchen verblieben im Affenperitoneum nur 6 Tage, da der Affe nach der Operation die Nahrung verweigerte (Affen leben unter solchen Umständen 8—14 Tage). Die eliminierten Schilfsäckchen waren prall mit einer stinkenden, trüben Flüssigkeit gefüllt und zeigten im Ausstrich nur zahlreiche Kokken und Stäbchen verschiedener Länge. Trotzdem sich hier keine Spirochäten auffinden ließen, wurden in neue Schilfsäcke einige Tropfen dieses Wachstums wiederum auf inaktivem Menschenserum weitergeimpft und Kaninchen in gleicher Weise, wie beim Affen, in die Bauchhöhle versenkt.

Als nach 5 Tagen die Säckchen herausgenommen und untersucht wurden, zeigte sich uns das überraschende Bild einer reichlichen Spirochätenflora im Ausstrich. Die Spirochäten zeigten nur in der Minorität ausgesprochene *Pallida*-Windungen, hauptsächlich waren es Formen, die den angestreckten, flachen bis in die steil gewundenen angehörten. Wie auch in unseren Vitrokulturen auf Ascites haben wir hier Gesichtsfelder, die deutlich zeigten, daß bei gleicher Dicke der Spirochäten die verschiedenen Uebergänge von angestreckter zu flacher und steilgewundenen Formen sich nebeneinander finden. Die ziemliche Sicherheit, daß wir keine andere Formen von Spirochäten verimpft hatten wie die *Pallida* und die Unmöglichkeit einer Verunreinigung mit andersartigen Spirochäten gibt zu gewissen Ueberlegungen Veranlassung. Im Ausstrich von Affekten begegnet man oft Formen, die in einer Hälfte die typischen steilen Windungen der *Pallida* zeigen, in der anderen Hälfte entweder ausgestreckt oder flach wie unregelmäßig erscheinen. Weiterhin ist auch die sogenannte *Refringens*-Spirochäte in ihrer Beziehung zur

1) Für die Operationen am Affen sind wir Dr. Altschüler zu bestem Danke verpflichtet.

Pallida nicht geklärt, vielmehr sind es rein spekulative Ueberlegungen, die der Refringens eine Sonderstellung verliehen haben. Bei einer exquisiten Spirochätenerkrankung, dem Recurrensfieber, wo an der Einheit der Spirochätenart keine Zweifel bestehen können, sieht man ebenfalls im Blutaussstrich verschieden dicke wie auch verschieden gewundene Exemplare nebeneinander, es würde somit eine eventuelle Verwandtschaft der *Spirochaete refringens* mit der *Pallida* somit keineswegs für die Beziehung der *Spirochaete pallida* zur Syphilis von wesentlicher Bedeutung sein.

Um nun wieder auf unsere Kulturversuche zurückzukommen, hätte ich noch weiter mitzuteilen, daß die Fortzüchtung der so gezüchteten Spirochätengeneration in geschilderter Weise noch in weiteren 7 Passagen möglich war. Das Wachstum zeigte stets neben den beschriebenen Spirochätenformen Kokken und Stäbchen verschiedener Arten. Die Bemühungen, außerhalb des Tierkörpers eine Fortzüchtung des Wachstums zu erzielen, schlug stets fehl. Wechseln der die Säckchen umgebenden Nährflüssigkeiten im Brutschrank, sowie tagelanges Bespülen mit Ascites waren fruchtlos. Die Mißerfolge einer Züchtung *in vitro* sind sicherlich durch die Levaditischen Intraperitonealkulturen der *Spirochaete pallida* nur als vorübergehend anzusehen, weshalb ich es auch für angebracht hielt, die Nachprüfung hier mitzuteilen.

Schlusssätze.

1) Die Tinktionsstärke der *Spirochaete pallida* ist eine Funktion der Färbetechnik.

2) Für intensive Färbungen ist jegliche Fällung der verdünnten aufgekochten Giemsa-Lösung zu vermeiden.

3) Auf Ascites zeigt sich ein Wachstum von Spirochäten, die in allen Windungsvariationen auftreten.

4) Bei Schilfsackkulturen, mit ausschließlichen *Pallida*-Formen als Ausgangsmaterial, treten ebenfalls ausgestreckte, wie flach gewundene Formen auf, weshalb die Wandelbarkeit der *Pallida*-Form unter gewissen Bedingungen in Frage kommt.

5) Die Sonderstellung der *Spirochaete refringens* unterliegt noch einer Kritik.

Serologische Untersuchungen.

Seit dem Jahre 1906 sind 5 verschiedene Methoden zur Serodiagnose der Lues sowie Tabes und Paralyse gefunden worden: die Wassermann-A. Neisser-Brucksche Reaktion durch Komplementbindung, die Fornet-Schereschewskysche Präzipitinmethode, die Reaktion mit Lecithin von Porges, die Präzipitinreaktion mit Organextrakt als Präzipitinogen von L. Michaelis und endlich das Phänomen von Klausner, hervorgerufen durch destilliertes Wasser. Die älteste und meistbesprochene, die Wassermann-Neisser-Brucksche Reaktion, entspringt dem Bordet-Gengouschen Phänomen, daß ein Zusammenreffen von Antigen mit entsprechendem Antistoff im hämolytischen System ein Ausbleiben der Hämolyse bewirkt. Beispielsweise würde Typhusbacillenemulsion plus Typhusimmunserum die Hämolyse, welche im Gemenge von Hammelbluterythrocyten und auf diese gerichtetes inaktives Immunserum (Ambozeptor) nebst frischem Meerschweinchen-serum (Komplement), durch Ansichreißen des Komplements, verhindern. Diesem Vorgange entsprechend setzten genannte Autoren an Stelle der

Typhusbacillenemulsion spirochätenreiche Leberextrakte und an Stelle des Typhusimmunserums Serum von Luetikern, wobei sich nun in gleicher Weise eine Fixation des Komplements herausstellte und die Autoren zur Annahme so aufgefundener Luesantigene und Luesantikörper veranlaßte. Jedoch zeigten bald darauf Untersuchungen von Marie und Levaditi, Weil und Braun, Landsteiner u. A., daß die Reaktion in gleicher Weise eintritt, wenn statt des syphilitischen Leberextraktes Extrakt normaler Organe und nichtsyphilitischer Tumoren, sowie alkoholische Organauszüge gesetzt werden. Die Extrahierbarkeit mit Alkohol der die Reaktion bewirkenden Körper veranlaßte Porges, Meier und Landsteiner zu der Annahme, daß die Lipoidе, vornehmlich das Lecithin, dafür anzuschuldigen seien, wogegen Fleischmann mit Cholesterin und Vaseline bessere Resultate erzielte. Von einer spezifischen Syphilisreaktion wäre hiernach keine Rede mehr. Levaditi und Yamanouchi fassen ihre Versuche über diesen Punkt so zusammen, daß sie der Reaktion die Beziehungen zu Luesantigenen und Antistoff, sowie zu *Spirochaete pallida* völlig absprechen — die Reaktion für histogenen, nicht bakteriellen Ursprungs ansehen. Diesen ungeklärten theoretischen Momenten stehen praktische Ergebnisse gegenüber, die eine Brauchbarkeit der Komplementbindungsreaktion zur Erkennung der Syphilis außer Zweifel lassen. Eine Zusammenstellung von ca. 900 Untersuchungen Nichtsyphilitischer zeigt nur 6 positive Reaktionen, wogegen sichere Lues in 93,5 Proz. die Reaktion gab. Auch Tabès und Paralyse zeigen gleiche Verhältnisse. Levaditi und Yamanouchi sahen bei Verwendung von Spinalflüssigkeit in 93 Proz. die Reaktion eintreten; die gleichzeitige Untersuchung des Serums von Paralytikern ergab nur den Wert von 59 Proz., weshalb die Autoren der Praxis die Verwendung der Spinalflüssigkeit für die Diagnostik empfehlen. Die Wassermann-Neisser-Brucksche Reaktion ist somit berufen, über das Vorliegen von Lues in zweifelhaften Fällen zu entscheiden; die Schwierigkeiten liegen immerhin noch in der technischen Seite des Komplementbindungsverfahrens, weshalb sie nur an geeigneten Stätten von speziell damit vertrauten Untersuchern durchführbar ist. Es war nun Fornets und mein Bestreben, an der Hand einer so gut fundierten und biologisch präzisen Methode, wie der Präzipitinreaktion, eine relativ viel einfachere Luesserodiagnose zu ermöglichen und das theoretische Verhalten der postulierten Lueskörper und Antikörper zu beleuchten. In welcher Weise dieses geschah, ist an anderer Stelle näher mitgeteilt worden — hier sei nur die momentane Stellung unserer Reaktion besprochen.

Das Verdienst, das Antigen im Körper zuerst gefunden zu haben, kommt Fornet zu, welcher an der Hand von Typhus, wie experimentell im Kaninchenkörper erzeugtes, so auch bei Typhuskranken sich findendes Typhusantigen mittels der Präzipitinreaktion nachwies und diesen Nachweis des Präzipitinogens im Körper die Präzipitatreaktion benannte. An einer Reihe von Typhusverdachtsfällen von mir vorgenommene Untersuchungen konnten diese Versuche Fornets bestätigen, indem sich im Patientenserum, das noch keine Agglutinine und Präzipitine aufwies, Präzipitinogene nachweisen ließen. Wir hatten somit bei der Syphilis auf entsprechende Stadien der Erkrankung unser Augenmerk zu richten und fanden in der Tat, daß sich im Serum Sekundärsyphilitischer Stoffe vorfinden, die in ihrem Verhalten gegenüber Paralytiker Serum zur Annahme von Luespräzipitinogenen berechnigten. Eine Untersuchung von über 100 Fällen von Luetikern, Tabikern und Paralytikern zeigte uns in

der größten Mehrzahl Reaktionen bei Ueberschichten von Serum florider Sekundärsyphilis mit Serum von Paralytikern. Diese sich als „Ring“ an der Schichtgrenze zeigenden, körperlichen Ausfällungen traten nur bei genannter Koinzidenz von theoretisch anzunehmendem Präzipitin und Präzipitinogen auf und blieben dort aus, wo letzteres nicht anzunehmen war. In einer mit Eisenzimmer und Rosenfeld veröffentlichten Arbeit sind Protokolle und Krankengeschichten angegeben, wie auch die Technik der Reaktion näher geschildert, worauf ich hier verweisen möchte. Ich wiederhole nur kurz den Vorgang unserer Reaktion: Aus dem am besten durch Punktion der Cubitalvene gewonnenen Blut vom Sekundärsyphilitiker mit floriden Erscheinungen wird durch Zentrifugieren Serum bereitet, welches nur im Falle absoluter Klarheit mit Pasteurischer Pipette und Gummiball in 0,5 cm breite und 7 cm hohe Gläschen gebracht und darüber in gleicher Weise das Serum vom Paralytiker aufgeschichtet. Spontan oder nach einiger Zeit sieht man an der Schichtgrenze beider Sera eine körperliche Ausfällung, die auf schwarzem Hintergrunde noch deutlicher hervortritt.

Wie schon erwähnt, sahen wir solche Reaktionen nur dort auftreten, wo nach der Annahme Präzipitin und Präzipitinogen, dem Stadium der Erkrankung entsprechend, zusammentrafen, wogegen Serum Nichtluetischer nicht reagierte. Eine ausgedehnte Reihe solcher Befunde berechtigte uns zu der Annahme, daß wir es hier mit einer Präzipitinreaktion im Sinne der Immunitätslehre zu tun haben und daß im Serum des Sekundärsyphilitikers das Luespräzipitinogen, im Serum des Paralytikers das entsprechende Präzipitin sich findet. Nachprüfungen liegen vor von Citron, Fr. Blumenthal, Plaut, Heuck und Rossi, welche in der Mehrzahl unsere Angaben bestätigt fanden. Die Einwände von Plaut, Heuck und Rossi beziehen sich auf Reaktionen, die durch Normalserum ausgelöst werden und auf dem Auftreten von Iso- und Autopräzipitinen beruhen, wie es von Fornet und mir an anderer Stelle ausführlich dargestellt wurde.

Unsere Präzipitinreaktion hat ihre Brauchbarkeit auch für andere Infektionskrankheiten gezeigt.

An der Hand von 30 Scharlachfällen, die mir freundlichst von Dr. Eisenberg zur Verfügung gestellt wurden, konnte ich nachweisen, daß Serum von Scharlachkranken aus dem Exanthemstadium mit Serum von Scharlachrekonvaleszenten bei ihrer Zusammenschichtung Ringbildungen eingingen. Masern zeigten gleiche Verhältnisse, nur daß ein Präzipitin bei Masern nur in früheren Stadien der Erkrankung zu finden war, was beim Scharlach in der größeren Zeit der Schuppungsperiode noch möglich schien.

Wir stellten somit den Satz auf, daß bei Infektionskrankheiten sich zwei Stadien abgrenzen lassen — ein Stadium des Präzipitinogens und ein Stadium des Präzipitins, welche beide beim Aufeinanderwirken der Sera aus diesen Stadien bei ein und derselben Krankheit als Ringbildungen bei unserer Versuchsanordnung sich dokumentieren.

Neuerdings sind Versuche von Klausner mitgeteilt worden, die darin bestehen, daß eine Mischung von 0,2 ccm Serum von Sekundärluetikern mit 0,7 ccm destillierten Wassers für Lues spezifische Niederschläge hervorruft.

Früher von uns gemachte Beobachtungen, daß eine Schichtung von Scharlachpatientenserum mit Aqua dest. eine „Ringbildung“ hervorruft, veranlaßten uns, daraufhin diese Versuche zu wiederholen.

In der Tat konnten wir die Angaben Klausners bestätigen, indem wir bei Sekundärluetikern Niederschläge beobachteten, die bei Fällen vor Ausbruch der Sekundärerrscheinungen nicht auftraten oder nur in Spuren sich zeigten; jedoch sahen wir bei 4 Scharlachrekonvaleszenten die gleichen Niederschläge wie bei Lues.

0,2 ccm Serum von Fall I		Niederschlag n. 15 Std.
0,2 " " " " II	} + 0,7 ccm Aqua dest.	volumin. Niederschlag
0,2 " " " " III		Sehr starker Niederschl.
0,2 " " " " IV		Spuren
0,2 " " " " V		Volumin. Niederschlag
0,2 " " " " VI		Wie in No. 1.
0,2 " " " " VII		desgl.
		desgl.

Fall I und II Sekundärsyphilitiker; Fall III 14 Tage nach Auftritt eines Primäraffektes, noch keine Sekundärsymptome.

Fall IV—VII Scharlachfälle aus der 4.—6. Woche der Erkrankung.

Die Klausnersche Reaktion tritt somit bei Scharlachrekonvaleszenten in gleicher Weise auf, wie bei Lues.

Schlusssätze.

1) Fornets und meine Reaktion berechtigen zu der Annahme, daß sich bei Infektionskrankheiten zwei Stadien unterscheiden lassen, in denen das Serum entsprechendes Präzipitin und andererseits Präzipitinogen aufweist.

2) Das Zusammenwirken dieser beiden Stoffe tritt in Form eines „Ringes“ auf und ist diagnostisch zu verwerten.

3) Die Klausnerschen Angaben für Lues finden sich auch beim Scharlach vor.

Vorliegende Untersuchungen sind durch das freundliche Entgegenkommen der Herren Prof. Wollenberg, Wolff und Koths, sowie der Assistenten Privatdoz. Dr. Rosenfeld, Dr. Eisenzimmer, Koch, Eisenberg und Meier gefördert worden, wofür wir ihnen aufrichtigsten Dank schulden.

Ganz besonders möchten wir an dieser Stelle Prof. Dr. Forster, Oberarzt Dr. W. Fornet und Dr. Hügel danken, deren wohlwollendes Interesse diese Arbeit ermöglichte.

Nachtrag bei der Korrektur.

In letzterer Zeit studierten wir mit Dr. Hügel die Bedeutung des Chinin. muriat. für die Syphilisprophylaxe und konnten am Affen feststellen, daß dem Chinin eine Präventivwirkung zukommt, die sich in unseren Versuchen dem Quecksilber und Atoxyl gegenüber überlegen gezeigt hat, worüber an anderer Stelle ausführlich berichtet sein soll.

Literatur.

- Adrian, Arch. f. Dermat. u. Syphilis. Bd. XLVII.
 Ascoli, Münchener med. Wochenschr. 1903. No. 5.
 Bab, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 48.
 Babes, Zeitschr. f. Hygiene. 1907.
 — u. Panea, Ueber pathologische Veränderungen und Spir. pallida bei kongenitaler Syphilis. (Berlin. klin. Wochenschr. 1906. No. 34.)
 Barthélemy, La grande découverte du vrai microbe de la syphilis. (La Syphilis. T. III. 1905.

- Benda, Berlin. med. Ges. 1907. März. — Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 15 u. 16.
- Bertarelli, E., Das Wesen der Hornhautsyphilis des Kaninchens und die Empfänglichkeit der unteren Affenarten und der Meerschweinchen für dieselbe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XLIII. 1907. p. 448.)
- , Ueber die Transmission der Syphilis auf das Kaninchen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XLI. 1906.)
- , u. Volpino, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1906.
- Blaschko, Spirochaete pallida. (Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 38.)
- Bordet, J., Les sérums hémolitiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1900. No. 5. p. 257.)
- Bruck u. Stern, Die Wassermann-Neisser-Brucksche Reaktion bei Syphilis. (Deutsche med. Wochenschr. 1908. No. 10.)
- Buschke u. Fischer, Ueber das Vorkommen von Spirochäten in inneren Organen eines syphilitischen Kindes. (Deutsche med. Wochenschr. 1905.)
- Castellani, Journ. of trop. med. 1905.
- Centanni, Ueber Autopräzipitine. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. p. 508.)
- Citron, J. Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 29. — Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 43. — Sitzungsber. d. Berl. med. Ges. von 26. Febr. 1908.
- Doutrelepoint u. Grouven, Ueber den Nachweis von Spir. pallida in tertiärsyphilitischen Produkten. (Deutsche med. Wochenschr. No. 23.)
- Finger u. Landsteiner, Untersuchungen über Syphilis bei Affen. (Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien. Math.-naturw. Kl. Juni 1905. Abt. III. Bd. CXIV. — Ebenda 1906.)
- , Die neuesten Errungenschaften auf dem Gebiete der Syphilidologie. (Wiener klin. Wochenschr. 1908. No. 1.)
- Fleischmann, Sitzungsber. d. Berl. med. Gesellsch. Sitzung v. 19. Febr. 1908.
- Forest, Beitrag zur Morphologie der Spir. pallida. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII. p. 608.)
- Fornet, W., Die Präzipitatreaktion, ein Beitrag zur Frühdiagnose bei Typhus und anderen Infektionskrankheiten. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 38.)
- , Ueber den Nachweis des Bakterienpräzipitins im Organismus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Abt. I. Bd. XLIII. 1907. Heft 8.)
- u. Schereschewsky, Serodiagnose bei Lues, Tabes und Paralyse durch spezifische Niederschläge. (Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 30.)
- , Ueber Luespräzipitine und Luespräzipitinogene. Vortrag, gehalten auf dem XIV. Internat. Kongreß für Hygiene und Demographie. Berlin 1907.)
- , Gibt es eine spezifische Präzipitationsreaktion bei Lues und Paralyse? (Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 7.)
- , Ueber die Spezifität der Präzipitatreaktion bei Lues, Tabes und Paralyse. (Berlin. klin. Wochenschr. 1908. No. 18.)
- , Eisenzimmer u. Rosenfeld, Spezifische Niederschläge bei Lues, Tabes und Paralyse. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 41.)
- Friedenthal, Ueber Spirochätenbefunde bei Carcinom und Syphilis. (Berlin. klin. Wochenschr. 1906. No. 37.)
- Furesz, Ueber die Beziehungen der Spir. pallida zur antiluetischen Kur. (Med. Klinik. 1907. No. 55.)
- Gengou, Sur les sensibilatrices des sérums actifs. (Ann. de l'Institut Pasteur. 1902. p. 734.)
- Giemsa, Beitrag zur Färbung der Spir. pallida (Schaudinn) im Ausstrichpräparat. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 17. p. 676.)
- Haensell, Gräfes Archiv. Bd. XXVII. 1881.
- Halberstädter, L., Weitere Untersuchungen über Framboesia tropica bei Affen. (Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XXVI. 1907. p. 48.)
- Hamm, Beobachtungen über Bakterienkapseln auf Grund der Weidenreichschen Fixationsmethode. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. Heft 3.)
- Hamonic, Rev. andrologie et de gynaeol. 1903.
- Hedén, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1908.
- Herxheimer u. Opificius, Weitere Mitteilungen über das Vorkommen der Spir. pallida bei Syphilis. (Münchener med. Wochenschr. 1906.)
- Hoffmann, E., Weitere Mitteilungen über das Vorkommen der Spirochaete pallida bei Syphilis. (Berliner. klin. Wochenschr. 1905.)
- , Spirochaete pallida bei einem mit Blut geimpften Makaken. (Berlin. klin. Wochenschr. 1905.)
- , Die Aetiologie der Syphilis. Berlin (Springer) 1906.
- , Experimentelle Untersuchungen über die Infektiosität des syphilitischen Blutes. (Deutsche med. Wochenschr. 1906.)

- Hoffmann, E. u. Beer, Weitere Mitteilungen über den Nachweis der *Spir. pallida* im Gewebe. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 22.)
- u. Halle, Ueber eine bessere Darstellungsart der *Spir. pallida* im Ausstrich. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 31.)
- u. v. Prowazek, Untersuchungen über die Balanitis und Mundspirochäten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906.)
- Hügel u. Holzhauser, Arch. f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. LI. 1900.
- Janke, Ueber Cytorrhäenbefunde. (Münch. med. Wochenschr. 1905.)
- Iwanoff, Die Spirochaete pallida Schaudinn und ihre Beziehung zur Syphilis. (Veröffentl. d. kais. militär-med. Akademie.) St. Petersburg 1905. [Russisch.]
- Klausner, Vorläufige Mitteilung über eine Methode der Serumdiagnose bei Lues. (Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 7.)
- Klebs, Arch. f. exp. Pathol. 1879. Bd. X.
- Kraus, R., Ueber spezifische Reaktionen in keimfreien Filtraten aus Cholera-, Typhus- und Pestkulturen. (Wiener klin. Wochenschr. 1897. No. 32.)
- , Zur Aetiologie, Pathologie und experimentellen Therapie der Syphilis. (Wiener klin. Wochenschr. 1905.)
- u. Volk, Versuche über die Immunität bei Syphilis und bei Vaccine. (Verhandl. der Deutschen Dermatolog. Gesellsch. IX. Kongreß. Bern 1906. p. 242.)
- Krishaber, Fournier u. Barthélemy, La syphilis. 1903.
- Landsteiner, Wiener klin. Wochenschr. 1907.
- Lassar, Ueber Impfversuche mit Syphilis an anthropoiden Affen. (Berliner klin. Wochenschr. 1903. p. 1189.)
- Levaditi, Sur la coloration du Spirochaete pallida Schaudinn dans les coupes. (Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905.)
- , Morphologie et culture du Spirochaete refringens (Schaudinn u. Hoffmann). (Ibid. T. LXI.)
- , Cultures de la Spirochaete gallinarum, Spir. Duttoni et Spir. refringens. (Compt. rend. de l'acad. des sc. 14 mai 1906.)
- u. Manóvilian, Nouvelle méthode rapide pour la coloration des Spirochaete, sur coupes. (Ibid. 1906. — Ann. de l'Inst. Pasteur. 1907.)
- et McIntosh (de Aberdeen), Contribution à l'étude de la culture de „Treponema pallidum“. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XXI. 1907. No. 10. p. 784.)
- et Marie, Action du liquide céphalo-rachien des paralytiques généraux sur le virus syphilitique. (Soc. de Biol. mai 1907. — Semaine méd. 1907. No. 21. p. 251.)
- et Petresco, Passage du Spirochaete pallida dans le liquide de vésicatoire. (Presse méd. 1905.)
- et Yamanouchi, Recherches sur l'incubation dans la syphilis. (Compt. rend. des séances de la Soc. de Biol. 18 janv. T. LXIV. 1908. p. 50.)
- , Le serodiagnostic de la syphilis. (Ibid. 21 déc. 1907. p. 740.)
- Löffler, Neues Verfahren zur Schnellfärbung etc. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 22.)
- Maisonneuve, Expérimentation sur la prophylaxie de la syphilis. Paris 1906.
- Mandelbaum, Münch. med. Wochenschr. 1907.
- Marie et Levaditi, Les anticorps syphilitiques. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XXI. 1907. No. 2. p. 1499.)
- et Yamanouchi, La réaction de Wassermann dans la paralysie générale. (Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. LXIV. 1. Febr. 1908. p. 169.)
- Martineau et Hamonic, Bull. de l'acad. de méd. 1882.
- Metschnikoff, La syphilis expérimentale. (Revue.) (Bull. Inst. Pasteur. 1905. — Arch. général. de méd. 1905.)
- , La syphilis expérimentale. (Rapport. offic. Congrès Lassabon 1906.)
- , Ueber Syphilisprophylaxe. (Med. Klinik. 1906. p. 371.)
- , Ueber Syphilisprophylaxe. Vortrag, gehalten auf dem XIV. Kongreß für Hygiene etc. Berlin 1907.
- u. Roux, Etudes expérimentales sur la syphilis. Mém. I—V. (Ann. de l'Institut Pasteur. 1903. 1904. 1905. 1906.)
- Michaelis, L., Präzipitinreaktion bei Syphilis. (Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 46.)
- Moreschi, Zur Lehre von den Antikomplementen. (Berlin. klin. Wochenschr. 1905. No. 37. p. 1181.)
- Mühlens, Vergleichende Spirochätenstudien. (Zeitschr. f. Hygiene. 1907.)
- u. Hartmann, Kultur der Spiroch. dentium. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LV. 1906. p. 81.)
- Neisser, A., Ueber Versuche, Syphilis auf Schweine zu übertragen. (Arch. f. Dermat. u. Syphilis. Bd. LIX. 1903.)

- Neisser, A., Meine Versuche zur Uebertragung der Syphilis auf Affen. (Deutsche med. Wochenschrift 1904. No. 38/39.)
- , Die experimentelle Syphilisforschung nach ihrem gegenwärtigen Stande. Berlin (Springer) 1906.
- u. Sachs, Ein Verfahren zum forensischen Nachweis der Herkunft des Blutes. (Berliner klin. Wochenschr. 1905. No. 44. p. 1388.)
- Neumann, J., Ist die Syphilis ausschließlich eine Krankheit des menschlichen Geschlechtes oder unterliegen derselben auch Tiere. (Wiener med. Wochenschr. 1883.) (Nach dem Literaturverzeichnis von Sobernheim in: Handb. d. pathog. Mikroorg. von Kolle-Wassermann.)
- Nicolle, Recherches expériment. sur l'inoculation de la syphilis au singe (bonnet chinois). (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903.)
- Noeggerath u. Staehelin, Spirochaete pallida im Blute Syphilitischer. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 31.) — Therap. Monatsh. 1908. No. 2.
- Novy und Knapp, Journ. of the Amer. Assoc. 1906. p. 2152. (Spiroch. Obermeieri gezüchtet in Kollodiumsäckchen im Kaninchenperitoneum.)
- Oppenheim, Der gegenwärtige Stand der Lehre und der Therapie der Syphilis. (Med. Klinik. 1908. No. 6.)
- Paschen, Demonstration der Spir. pallida. (Münch. med. Wochenschr. 1905.)
- Plaut, Heuck u. Rossi, Gibt es eine spezifische Präzipitationsreaktion bei Lues und Paralyse? (Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 2.)
- Porges u. Meier, Berlin. klin. Wochenschr. 1907. No. 51.
- Preis, Der bakteriologische Nachweis der Lues. (Wiener med. Presse. 1906. No. 49.)
- v. Prowazek, Vergleichende Spirochätenuntersuchungen. (Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XXVI. 1907. Heft 1.)
- Raubitschek, Ueber einen Fund der Spir. pallida im kreisenden Blut. (Wien. klin. Wochenschr. 1905.)
- Ricord, Malad. vénér. 1838.
- Robshoven, Ueber das Vorkommen der Spirochaete pallida im Blut. (Med. Klinik. 1907. No. 38.)
- Sablotny, Bull. Acad. Pétersbourg. 1904. — Dermatologenkongreß in Bern 1906. — XIV. Internationaler Kongreß f. Hyg. etc. Berlin 1907.
- Saling, Zur Kritik der Spirochaete pallida Schaudinn. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI u. XLII. 1906.)
- Schaudinn, F., Zur Kenntnis der Spirochaete pallida. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 42.)
- , Erwiderung auf die Bemerkung von Bütschli. (Dtsche med. Wochenschr. 1906.)
- , Verhandl. d. internat. med. Kongreß. Lissabon 1906. — Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. 1904 u. 1907.
- u. Hoffmann, E., Vorläufiger Bericht über das Vorkommen von Spirochäten in syphilitischen Krankheitsprodukten und bei Papillomen. (Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XXII. 1905.)
- , Ueber Spirochaete pallida bei Syphilis und die Unterschiede dieser Form gegenüber anderen Arten dieser Gattung. (Berlin. klin. Wochenschr. 1905.)
- Scherber, Durch Syphilisimpfung erzeugte Keratitis parenchymatosa beim Kaninchen. (Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 24.)
- Schereschewsky, J., Zum Nachweis der Spirochaete pallida im Ausstrich. (Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 12.)
- , Das Verhalten der Spirochaete pallida (Schaudinn) bei der Giemsa-Färbung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 1.)
- , Ueber Serumreaktionen bei Scharlach und Masern. (Münch. med. Wochenschr. 1908. No. 15.)
- , Ueber Serodiagnose der Lues siehe Fernet.
- Schmorl, Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 22.)
- Schulze, W., Impfungen mit Luesmaterial an Kaninchenaugen. (Kl. Monatsblatt f. Augenheilkunde. 1905.)
- , Die Silberspirochäte. (Berlin. klin. Wochenschr. 1906. No. 37.)
- , Das Verhalten des Cytorreytes luis (Siegel) in der mit Syphilis geimpften Kanincheniris.)
- Seligmann, Beiträge zur Frage der sogenannten Komplementbindung. (Berlin. klin. Wochenschr. 1907. No. 32. p. 1013.)
- Siegel, J., Experimentelle Studien über Syphilis. II. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907.)
- Sobernheim, Spirillozen. (Kolle-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorgan. Ergänzungsband. Heft 2.)
- Tomasczewski, Münch. med. Wochenschr. 1906. u. 1907.

- Tscheenoff, *Spirochaete pallida* bei Syphilis. (Russk. Wratsch. 1905.)
 Umfrage über die ätiologische Bedeutung der *Spirochaete pallida* und der Cytorrh.
 Luis für die Syphilis. (Med. Klinik. 1905. No. 52.)
 Wassermann, Neisser u. Bruck, Eine sero-dignostische Reaktion bei Syphilis.
 (Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 745.)
 — — — u. Schucht, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LV. 1906. Heft 3.)
 — u. Plaut, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 44.)
 Weidenreich, Fol. haematol. 1906. No. 1.
 Weil u. Braun, Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 49.

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über Sarkosporidien.

[Aus dem Laboratorium für allgemeine Pathologie und Histologie der
 K. Universität Pavia (Leitung Prof. C. Golgi).]

Erste Mitteilung.

Von Privatdozent **A. Negri**, Assistenten.

Mit 2 Tafeln.

In den sog. „Sporen“ mancher Sarkosporidien habe ich gewisse Eigentümlichkeiten feststellen können, die meiner Ansicht nach Berücksichtigung verdienen.

Ich werde mich vorläufig lediglich auf eine Beschreibung der Befunde beschränken, die ich mit Hilfe der Romanowsky-Färbung an den Sporen erhalten habe, hoffe jedoch, recht bald noch weitere Beiträge zur Kenntnis dieser interessanten, bezüglich ihrer Morphologie und ihres Entwicklungszyklus noch so wenig bekannten Protozoen liefern zu können.

Ein reichliches Material zum Studium der Sporen hat mir *Mus decumanus* Pall. geliefert, dessen Muskeln ich ziemlich häufig mit Sarkosporidien — bekannt als *Miescheria muris* Blanch. oder *Sarcocystis muris* (Blanchard) Labbé — infiziert gefunden habe.

Aus den mit gut entwickelten, schon mit bloßem Auge sichtbaren Sarkosporidienschläuchen infizierten Muskeln gelingt es leicht, durch rasches, sorgfältiges Zerzupfen ganze freie Parasiten bzw. lange Bruchstücke derselben zu bekommen. Werden aber solche Parasiten auf einem Deckglas resp. Objektträger in einem Tropfen einer 0,75-proz. Kochsalzlösung fein zerzupft, so werden dadurch auch zahlreiche Sporen frei, die, in passender Weise auf das nämliche bzw. ein anderes Gläschen aufgestrichen und daselbst angetrocknet, sich als ganz zweckmäßig erweisen zur Ausführung der wohlbekannten einzelnen Tempi des Romanowskyschen Verfahrens.

Diesem letzteren, das Giemsa zu einem so praktischen und sicheren gestaltet hat, habe ich in der Regel den Vorzug gegeben, ganz besonders zur näheren Untersuchung der Kernstruktur und des Verhaltens des Kernchromatins, dessen Differenzierung in so vorzüglicher Weise gelingt, wie dies mit keiner anderen Kernfärbemethode möglich ist.

An in der soeben angegebenen Art und Weise und mit jenen Vorsichtsmaßregeln hergestellten Präparaten, die zur Verhütung einer Formveränderung erforderlich sind, zeigen die Sporen in der Regel das bekannte, auch bei der Untersuchung im frischen Zustande bemerkbare eigentümliche Aussehen.

Es sind sichel- bzw. halbmondförmig gestaltete, regelmäßig konturierte, kleine Gebilde mit abgerundeten Enden; bei Anwendung von Romanowsky-Färbung ist in dem nahezu in seiner Gesamtheit feinkörnigen, eine intensive Blaufärbung annehmenden Protoplasma ein elektiv rot oder violett-rot gefärbter Kern wahrzunehmen; selten liegt derselbe im mittleren Teile, gewöhnlich findet man ihn gegen den einen Pol der Spore hin verschoben.

Der Kern erscheint aus einer erheblichen Zahl von aneinanderliegenden, häufig die Neigung zu einer geradlinigen Anordnung zeigenden Chromatinklumpchen zusammengesetzt, deren Gesamtheit einen kleinen, ovidalen, häufig unregelmäßig zackig konturierten, vom Protoplasma nicht scharf sich abgrenzenden Haufen darstellt. Die große Achse des Kerns liegt in der Regel parallel zur Längsachse der Spore; der Querdurchmesser ist gewöhnlich nur um ein wenig kleiner als der des ihn einschließenden „sichelförmigen Körperchens“.

Wie bereits erwähnt, ist das Plasma ein kerniges, jedoch nicht im ganzen Körper der Spore; eines der beiden Enden — das dem Kern entgegengesetzte — erscheint bei Anwendung der Romanowsky-Färbung häufig eine gewisse Strecke hyalin, nahezu homogen; dieser Anteil nimmt die charakteristische blaue Färbung nicht an, vielmehr bleibt derselbe mitunter farblos; manchmal wieder färbt er sich schwach rosenrot.

Im Protoplasma umhergestreut sind ferner häufig rundlich bzw. unregelmäßig gestaltete Körnchen anzutreffen; durch Romanowsky-Färbung lassen sich dieselben in ganz ähnlicher Weise differenzieren, wie das Chromatin.

Größe, Zahl und Sitz solcher Gebilde sind keine konstanten; man kann 4—5 in einer einzigen Spore, ausnahmsweise auch mehr davon antreffen; in der Regel entfallen 1—2 Körnchen auf je eine Spore, manche in unmittelbarer Nähe des Kerns, andere wieder dieser Körnchen mehr oder weniger davon entfernt bei der verschiedensten Anordnung.

Soweit die Feststellungen, die ich mit Hilfe des oben erwähnten Verfahrens bei den typisch aussehenden Sichelkeimen von *Sarcocystis muris* habe machen können.

Meine diesbezüglichen Erfahrungen sind weiter nichts als eine Bestätigung dessen, was bei den Sporen anderer Sarkosporidien durch andere Forscher bereits bekannt geworden; manche dieser letzteren haben zum Studium dieser Gebilde Romanowsky-Färbung in Anwendung gebracht¹⁾.

* * *

Neben den in Bezug auf Struktur und Aussehen oben beschriebenen Sporen finden sich in den entwickelten Schläuchen von *Sarcocystis muris* — wenn auch in geringerer Anzahl — noch andere, bei denen die Anordnungsweise des Chromatins mehr oder weniger tiefgreifende Modifikationen erfährt, hierbei machen sich noch mehr oder weniger erhebliche Gestaltsveränderungen des ganzen Sporenkörpers bemerkbar.

Eben ein solches verschiedenartiges Aussehen des Kerns, sowie des Protoplasmakörpers ist es, das mir einer näheren Betrachtung wert erscheint.

1) Koch M., Ueber Sarkosporidien, Verhandl. des V. Internat. Zool. Congresses zu Berlin 1901. Jena, Fischer, 1902. — Laveran, zitiert von Mesnil: Bulletin de l'Institut Pasteur. 1907, in einer einem Referat über die Arbeit Berriers: „Structure de la spore de *Sarcocystis tenella* (Raill.) etc.“ beigefügten Note.

Selbst bei den Sporen, die ich — in Bezug auf die Form — als typische bezeichnet habe, lassen sich Unterschiede herausfinden. Allein solche Unterschiede sind nur geringgradige; sie betreffen die Art und Weise der Zusammenfügung der einzelnen Chromatinkörnchen und mehr das Gesamtaussehen des Sichelkeimes.

Bezüglich dieses Aussehens möchte ich daran erinnern, daß, während der Maximalabstand der beiden Enden stets 13—15 μ bleibt, der große Querdurchmesser verhältnismäßig größere Schwankungen zeigt, so daß neben 2,5—3 μ breiten Gebilden noch andere vorkommen, die wohl zwar die oben beschriebenen in Fig. 1 wiedergegebenen Merkmale darbieten, jedoch wegen der stärkeren Entwicklung des Querdurchmessers etwas plumper aussehen.

Bei manchen dieser Sporen bekommt man ferner den Eindruck, als ob die betreffenden Durchmesser des Kerns das Normale überstiegen. Ob dies mit einer tatsächlichen Zunahme des Chromatins zusammenhängt, oder vielmehr auf eine innigere Beziehung der einzelnen Chromatinkörnchen zueinander zurückzuführen ist, vermag ich nicht mit Sicherheit zu entscheiden.

Jedenfalls handelt es sich stets — auch in diesen Fällen — um Kerne, deren Chromatin sich zusammengeballt hat zur Bildung eines einzelnen rundlichen bzw. eiförmigen, die sonstige Anordnung und Lage im Inneren der Spore zeigenden Gebildes.

Eine Modifikation dieses Aussehens besteht zunächst im Auftreten einer den Chromatinhaufen auf eine mehr oder weniger lange Strecke in zwei Abschnitte teilenden Furche. Diese Teilung geht von jener Seite des Kernumrisses aus, die dem vom Kern am weitesten entfernten Pol der Spore zugekehrt ist und setzt sich sodann parallel zur großen Achse des Sichelkeimes gegen den anderen Pol der Spore hin weiter fort.

Zuweilen ist ein solcher Einschnitt nur angedeutet, in anderen Fällen ist derselbe wieder schärfer ausgeprägt; es entsteht daraus ein Chromatinhaufen — der Kern —, von dem zwei dicke, mehr oder weniger lange Chromatinstränge abgehen, die im Plasma weiter vordringen, wie dies aus Fig. 2, 3 und 4 zu ersehen ist; in dieser letzteren Figur ist das noch ungeteilte Chromatin in geringerer Menge vorhanden als bei den beiden vorhergehenden Formen.

Mitunter findet man auch das Chromatin in der Form eines umgebogenen Stranges, dessen Arme sich in der Richtung der großen Achse der Spore orientieren.

Jeder einzelne Fall weist bezüglich der Einzelheiten, sowie der Art und Weise, wie sich das Chromatin darstellt, besondere Merkmale auf. Was ich aber am meisten hervorheben möchte, ist der Umstand, daß bei sämtlichen Sporen der Prozeß wesentlich in gleicher Weise vor sich geht und von dem einzigen primären Kernhaufen aus zur Bildung von zwei länglichen Haufen führt, die an einem Ende noch Kontinuitätsbeziehungen zueinander zeigen können; von diesem Vorgange mag Fig. 5 eine Vorstellung geben.

Der Körper solcher Sporen erscheint in der Regel durch mehr oder weniger beträchtliche Zunahme des Querdurchmessers (s. Fig. 2, 3, 4, 5) verdickt; dies ist jedoch nicht immer der Fall, da man ja auch beim Kern normal ausschender Sporen dieselbe Wahrnehmung machen kann.

Bei anderen Sporen ist die Anordnung des Chromatins in zwei längliche, noch miteinander zusammenhängende bzw. voneinander scharf getrennte Strängen nicht mehr anzutreffen: an deren Stelle sind zwei

Chromatinhaufen wahrnehmbar, welche die dem Kern der typischen Sporen eigentümlichen Merkmale annehmen.

Es sind dies zwei etwas länglich gestaltete (Fig. 7), mitunter mehr eiförmige (Fig. 6) Gebilde, deren betreffende große Achsen parallel zueinander und zur Längsachse der Sporen verlaufen; bald sind dieselben noch durch Chromatinbrücken miteinander verbunden (Fig. 6), bald hingegen voneinander ganz unabhängig (Fig. 7).

Bei *Sarcocystis muris* sind solche Sporen bei gut entwickelten Parasiten in verhältnismäßig reichlicher Menge vorhanden; sie charakterisieren sich durch eine ei- bzw. nierenförmige Gestalt mit sehr schwach ausgesprochener Konkavität.

Von denselben geht es zu anderen über, bei denen zwei deutlich individualisierte, voneinander differenzierte Kerne, in Bezug auf Gestalt, Größe und Struktur ähnlich demjenigen der typischen Spore (Fig. 8), bemerkbar sind.

Auch diese Sporen sind durch eine nieren- bzw. eiförmige Gestalt gekennzeichnet; bei manchen derselben erscheint in dem feinkörnigen Plasma, längs einer das Gebilde in zwei, je einen Kern enthaltende symmetrische Hälften teilenden Linie das Protoplasma minder dick, wie verdünnt.

Diese Linie entlang ist es nun, wo in einem gewissen Zeitpunkt die Teilung der Spore in zwei gleiche, symmetrische Hälften unter Bildung von zwei neuen Individuen vor sich geht.

In Fig. 9 ist eine Spore abgebildet, die an ihrem Ende eine Strecke weit noch ungeteilt ist, aus derselben sind aber zwei typische, nahezu vollständige, an ihrem zugespitzten Ende wiederum miteinander verbundene Sporen entstanden; die Figur dürfte meiner Ansicht nach eine in dieser Richtung recht demonstrative sein.

An diese ließe sich vielleicht Fig. 10 anreihen; es handelt sich hier um zwei an ihren Polen noch innig zusammenhängende Sporen mit einer so eigentümlichen Anordnung, daß die Annahme berechtigt erscheint, ein solches Bild stelle das allerletzte Produkt jenes Teilungsprozesses dar, den wir bereits auf Grund der methodischen Darlegung der einzelnen Befunde in seinen Hauptzügen kennen gelernt haben.

Außer *Sarcocystis muris* habe ich auch noch ein anderes Sarkosporid zum Gegenstand meiner Untersuchungen an Sporen gemacht, und zwar *Sarcocystis Bertrami* Doflein, das ich ebenso häufig in unseren Gegenden in Muskelfasern der Speiseröhre von *Equus caballus* L. angetroffen habe.

Es sei hier sofort bemerkt, daß ich auch an den nach dem oben erwähnten technischen Verfahren hergestellten und mit Romanowsky-Giemsa gefärbten Sporenpräparaten von *Sarcocystis Bertrami* das bereits beim Sarkosporid der Ratten Beschriebene habe wahrnehmen können.

Um überflüssige Wiederholungen zu vermeiden, will ich mich hier in keine Details einlassen und nur daran erinnern, daß auch bei *Sarcocystis Bertrami* die Sporen größtenteils die typische, wohlbekannte Form zeigen; auffällig ist auch bei vielen derselben das hyaline Aussehen jenes Anteils des Protoplasmas, der das entferntere Ende des Kernes ausmacht (s. die Spore links Fig. 11). Recht selten dagegen, nahezu ganz fehlend — bei meinen Präparaten wenigstens — sind die im Sporenkörper umhergestreut vorkommenden, bei *Sarcocystis muris*

bei Anwendung von Romanowskys Methode die Chromatinfärbung annehmenden Körnchen.

Bei dieser Art wird es möglich, beim Kern alle oben angegebenen Formen und Modifikationen wahrzunehmen. So trifft man z. B. Kerne an, die eine beginnende Anordnung des Chromatins in zwei Stränge zeigen. Von diesen gelangt man durch eine ganze Reihe von Uebergangsstadien hindurch zu Gebilden, bei denen sämtliches Chromatin eine Schleife bildet, deren Arme die gleiche Richtung haben wie die große Sporenachse, eine beim Pferdeparasiten nicht gar selten vorkommende charakteristische Erscheinung, wovon Fig. 11 eine ziemlich genaue Vorstellung geben kann.

Aehnlich wie bei *Sarcocystis muris* sieht man dann auch bei diesen Sporen die Bildung zweier voneinander geschiedener, zuerst länglich gestalteter, späterhin sich zu zwei Tochterkernen zusammenziehender Chromatinstränge; hierbei zeigt der Sporenkörper das Bestreben, eine immer ausgeprägtere, eiförmige Gestalt anzunehmen (vgl. Fig. 12).

Es ist mir nicht möglich gewesen, beim Pferdeparasiten Sporen mit im Gang befindlicher Teilung anzutreffen; nichtsdestoweniger habe ich öfters solche vorgefunden, paarweise verbunden mit der bei *Sarcocystis muris* erwähnten und in Fig. 10 abgebildeten Anordnung.

Auch dieser Befund hat mich zur Ueberzeugung gebracht, daß bei beiden Parasiten die nämlichen Vorgänge in gleicher Weise sich abspielen.

* * *

Ich beschränke mich vorläufig auf die Darlegung dieser Erscheinungen. Ich glaube, dieselbe lassen sich sämtlich miteinander vereinigen und in Zusammenhang bringen als der Ausdruck eines nach bestimmten, konstanten Gesetzen vor sich gehenden Teilungsprozesses, durch Stadien hindurch, die, aller Wahrscheinlichkeit nach in der von mir angegebenen Ordnung aufeinander folgen.

Es ist aber leicht verständlich, daß hier nur von den Sporen der von mir bisher untersuchten Sarkosporidien die Rede sein kann¹⁾.

Daß das mitunter bei den Sporen wahrgenommene verschiedenartige Aussehen des Kernes und des Zellkörpers den Ausdruck einer echten Struktur darstellt, glaube ich mit voller Sicherheit behaupten zu dürfen. Hierbei ist die Möglichkeit entschieden auszuschließen, es handle sich um etwaige auf die Art und Weise der Herstellung resp. auf das hierzu angewendete Verfahren selbst zurückzuführende Alterationsprodukte des Kernes bzw. des Protoplasmakörpers.

Abgesehen von anderweitigen Betrachtungen und Feststellungen genügt es, um dies zu begründen, darauf hinzuweisen, daß bei der Untersuchung der Sporen in frischem Zustande einer dem kurz vorher getöteten Tiere entnommenen *Sarcocystis muris* bzw. *Sarcocystis Bertrami* — in einer 0,75-proz. Kochsalzlösung, worin die Form der Gebilde recht gut erhalten bleibt, oder aber im Muskelsaft selbst — es bis zu einem gewissen Grade möglich ist, die gleichen Erscheinungen, die später an gefärbten Präparaten mit aller Deutlichkeit hervortreten, zu beobachten. So werden neben den sichel- bzw. halbmondförmigen typischen Gebilden auch noch plumpere bzw. eiförmige angetroffen; bei

1) Die Beobachtungen an *Sarcocystis muris* von *Mus musculus* L. haben die nämlichen Resultate ergeben, wie beim Sarkosporid von *Mus decumanus*.

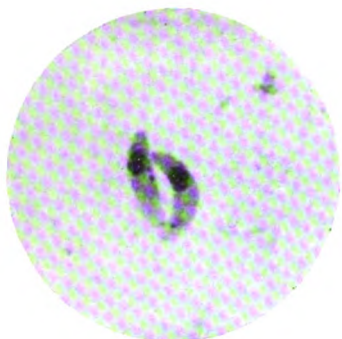


Fig. 1.

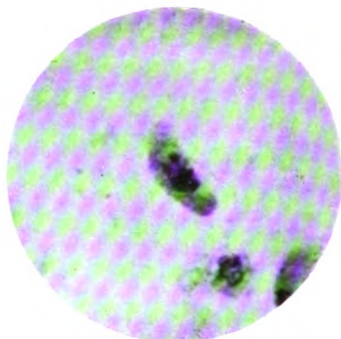


Fig. 2.

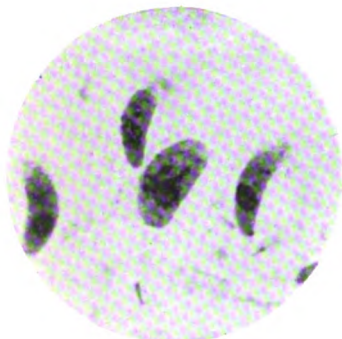


Fig. 3.

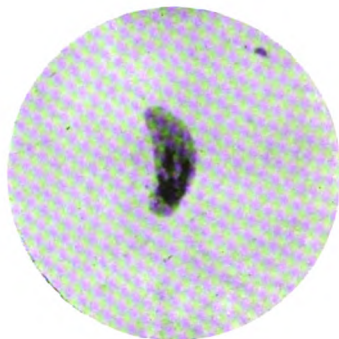


Fig. 4.

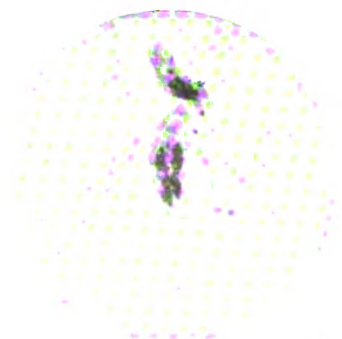


Fig. 5.

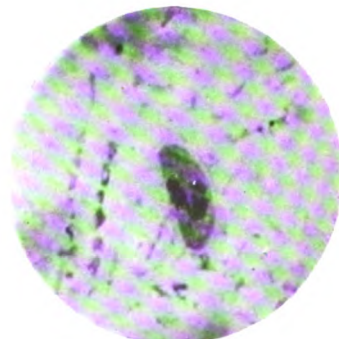


Fig. 6.

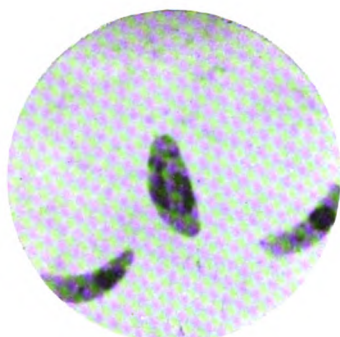


Fig. 7.

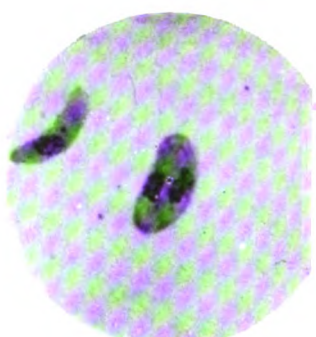


Fig. 8.

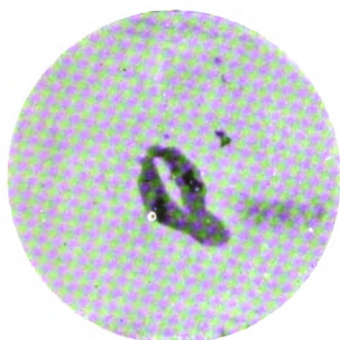


Fig. 9.

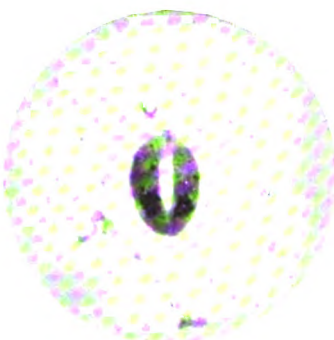


Fig. 10.

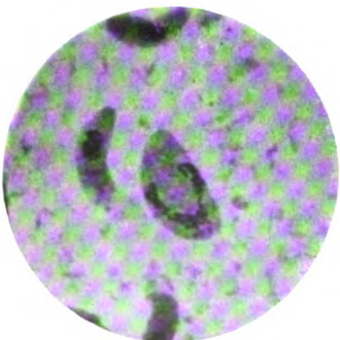


Fig. 11.

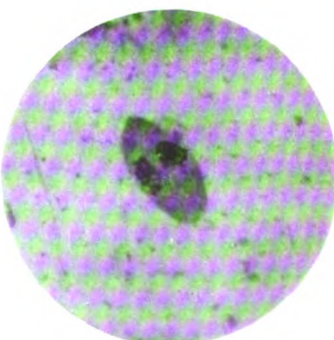


Fig. 12.

diesen letzteren sind nicht selten zwei helle, einander gegenüberliegende Vakuolen ziemlich deutlich wahrzunehmen und zwar gegen die Mitte des Sporenkörpers zu, mit Merkmalen ähnlich jener Vakuole, die bei typischen Sporen in frischem Zustande den Sitz der Kernchromatinhautens bezeichnen; auch in frischem Zustande sieht man mitunter, daß die Kernvakuole wie verlängert erscheint und nicht die gewöhnliche Eiform zeigt.

Trotzdem ich die umfangreiche, zerstreute, die Sarkosporidien betreffende Literatur sorgfältigst durchblättert habe, ist es mir nicht möglich gewesen, irgendeine Beschreibung der den Gegenstand der vorliegenden Mitteilung bildenden Erscheinungen aufzufinden.

Manche Hinweise auf Sporenteilung finden sich allerdings in der alten Arbeit von Hessling¹⁾; aus seiner Beschreibung aber, sowie aus den betreffenden Figuren (Fig. 9, Taf. X) ist jedoch deutlich zu entnehmen, daß die von ihm besprochenen Erscheinungen mit den von mir angegebenen wohl kaum etwas zu tun haben.

Zwei der von mir beschriebenen Stadien sind vielleicht von Manz bereits 1867 gesehen worden. Manz²⁾ gibt an, er habe einigemal, aber nur in den kleineren Miescherschen Schläuchen des Schweines, normalgestaltete Sporen, bei denen das „Kernbläschen“ durch eine feine Linie in zwei Hälften geteilt war, gesehen; außerdem als letztes Stadium der Teilung „häufiger zwei mit ihren konkaven Seiten aneinanderliegende Körperchen, welche an einem Ende noch zusammenhingen, deren jedes aber schon die völlig ausgebildete Nierenform hatte“ (l. c. Taf. XX, Fig. 5d).

Es handelt sich um vereinzelte Wahrnehmungen an Zupfpräparaten in verdünntem Glycerin bzw. im Muskelsaft selbst. Es ist leicht begreiflich, wie dieselben unbeachtet geblieben sind. Während nämlich die von Manz gegebene Abbildung von *Sarcocystis Miescheriana* Kühn in allen besseren und verbreiteten Lehrbüchern über pathogene Protozoen wiederzufinden ist, befaßt sich keiner der Autoren mit dem Prozeß, auf den Manz — allerdings in unvollständiger Weise — hindeutet.

Aus meinen Beobachtungen ließe sich, meiner Ansicht nach, der Schluß ziehen, daß in den Sporen ein nach wohlbestimmten, konstanten Gesetzen vor sich gehender Teilungsprozeß stattfindet; über Zweck und Bedeutung einer derartigen Vermehrung dürften weitere Untersuchungen Aufschluß geben.

1) Zeitschrift f. Wiss. Zool. Bd. V. 1854. p. 197.

2) Arch. f. Mikr. Anat. Bd. III. p. 349.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I:

Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6. Sporen von *Sarcocystis muris* Blanch.

Tafel II:

Fig. 7, 8, 9, 10. Sporen von *Sarcocystis muris* Blanch.

Fig. 11, 12. Sporen von *Sarcocystis Bertrami* Dof.

Färbung nach Romanowsky-Giemsa.

Sämtliche Photographien mit Obj. 2 mm Apochr. Zeiss, homog. Imm. Apert. 1,40, Projektionsokular No. 4, Kammerlänge ca. 60 cm ausgeführt.

Keine Retusche an der Negative.

Nachdruck verboten.

Ueber durch Trematoden verursachte Hautwucherungen bei *Zeus faber* und das subkutane Vorkommen! von Trematodencysten.

[Aus dem Institut für Fischkrankheiten an der Wiener tierärztlichen Hochschule.]

Von Prof. Dr. J. Flebiger, Wien.

Mit 2 Figuren.

Von der zoologischen Station in Triest wurde mir seinerzeit ein *Zeus faber* eingeschickt, welcher an der Hautoberfläche ausgedehnte und höchst merkwürdige Wucherungen zeigte (Fig. 1). Die linke Seitenfläche des 36 cm langen Tieres ist zum Teil mit warzigen Hautwucherungen besetzt, welche in Form von zwei breiten Streifen, der eine oberhalb, der andere unterhalb der Seitenlinie, in einer Länge von 10 cm verlaufen und blumenkohlartig über die Unterlage vorspringen. Die größte Erhebung wird in der Mitte erreicht und beträgt 8 mm über dem Hautniveau.

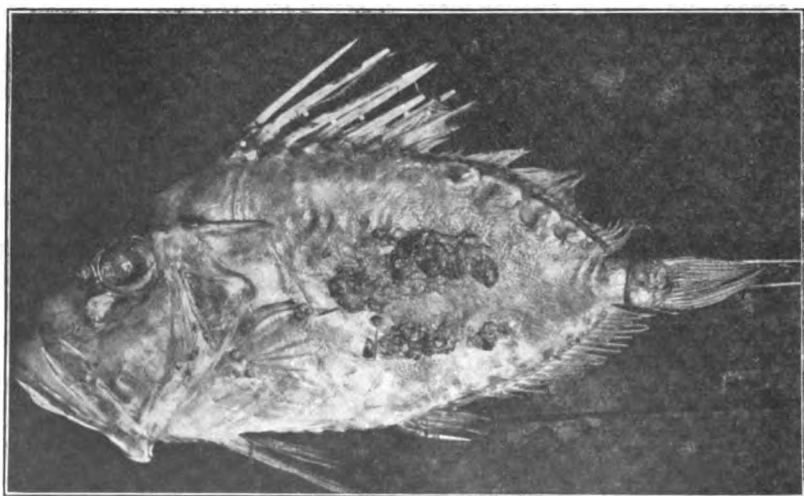


Fig. 1.

Die Wucherungen setzen sich aus größeren beerenartigen Gebilden mit zerknitterter, grauer Oberfläche und aus kleinen, mohnkorngroßen, weißen Knötchen zusammen, welche letztere zum Teil nebeneinander gelagert, zum Teil über die Haut versprengt vorkommen oder auch den größeren Elementen aufsitzen. Auf der rechten Körperseite bilden sie ebenfalls in längeren Streifen angeordnete Konglomerate, ähnlich denen der linken Seite, jedoch in geringerer Ausdehnung. Von den kleinsten zu den größten Knötchen lassen sich Uebergangsformen feststellen, so daß der Eindruck gewonnen wird, daß die größeren Knötchen aus den kleineren hervorgegangen sind. Jedes Knötchen besteht aus einem Balg,

der in seinem Inneren einen breiigen Inhalt beherbergt, welcher sich nach Eröffnung der Cystenwand mit der Nadel leicht herausheben läßt.

Zur Erforschung der Details wurden von den verschiedensten Partien, durch die kleinsten Knötchen und durch große Konglomerate histologische Schnittpräparate angefertigt. Leider war das Resultat sehr dadurch beeinträchtigt, daß das Objekt schon in halbfaulem Zustande eingelangt war.

Im Schnittpräparat beobachten wir folgendes Bild:

Die kleinsten Knötchen bestehen aus einer einzigen Cyste mit geschichteter Wand. Die größeren Knoten setzen sich aus einer Anzahl solcher Elemente zusammen. Bei den kleinen Knötchen unterscheiden wir vor allem eine strukturlose, homogene, nach dem färbetechnischen Verfahren (Weigert) aus Fibrin bestehende innere Hülle. Der Inhalt derselben wird von einer feinkörnigen Masse gebildet, in welche gröbere, wabig gebaute Körner, welche sich stark mit Hämatoxylin färben, eingestreut sind.

Die homogene Hülle ist meist von einer mächtigen Schicht von dichtgedrängten kleinen Zellkernen mit wenig Zwischensubstanz umgeben. Nach außen davon findet sich als dritte Schicht noch eine Hülle von konzentrisch verlaufenden Bindegewebszellen. Diese Cysten liegen durchwegs nach außen von der parallel-faserigen Bindegewebschicht des Coriums. Bald sind sie in eine Delle derselben eingelagert und hebeln die Schuppen aus ihrem Lager, bald liegen sie mehr oberflächlich oberhalb der Schuppen. Ueberall finden sich an der Oberfläche des Schnittes zahlreiche Chromatophoren, während die Epidermis fehlt. Sie ist anscheinend durch den Fäulnisprozeß zugrunde gegangen und abgestreift worden, ein Vorgang, der bei der übergroßen Empfindlichkeit des Epithels der Fischhaut wohl erklärlich ist.

Die Größe und Gestalt der Cystchen erleidet dort, wo sie zu größeren Gebilden agglomiert sind, durch gegenseitigen Druck vielfache Veränderungen. Sie sind mitunter ganz platt gedrückt, häufig ist die Wand stark gebuchtet und gerunzelt. Wir treffen dann häufig aneinander gelagert ganze Konglomerate von Fibrincystchen, die von einer gemeinsamen Bindegewebswucherung umgeben sind.

Dem Wesen nach wiederholt sich jedoch der skizzierte Aufbau getreulich in allen Präparaten, ob nun die Schnitte durch große oder kleine Knoten geführt werden.

Die bindegewebige Hülle und die Ansammlung zahlreicher Kerne mit geringer Grundsubstanz würde für einen durch einen Fremdkörper ausgeübten Reiz, die Fibrinkapsel für eine selbständige Ausscheidung sprechen, welche in erster Linie den Gedanken an einen Parasiten nahelegt. Tatsächlich finden sich bei Fischen häufig Parasiten, welche sich auf der äußeren Haut einnisten und dort Knötchen und Pusteln erzeugen (Myxosporidien, Ichthyophthirius, auch Trematoden, wie *Holostomum*). In den beschriebenen Gebilden konnten jedoch eindeutige Anhaltspunkte über die Beschaffenheit des allenfallsigen Parasiten nicht gewonnen werden. Ein einziges Mal gelang es, bei der Herstellung der Schnitte auf eine Cyste zu treffen, welche geeignet war, Licht in die Aetiologie der Wucherungen zu bringen. In Fig. 2 ist dieses Präparat abgebildet. Wir sehen ebenfalls eine Cyste, welche jedoch unterhalb der Lederhaut (*Co*), zwischen letzterer und der Körpermuskulatur (*M*), entsprechend der Pigmentschicht eingelagert ist. Die Cyste ist 1,2 mm lang und 1 mm breit. Die Grenzschicht besteht aus einer dünnen Lage von

Bindegewebsfasern (*a*). Im Innern birgt sie eine zweite kleinere, unregelmäßig gestaltete Cyste (*c*) mit dünner und homogener Wand (nach Art der früher beschriebenen fibrinösen Cystenwände). Der Durchmesser dieser kleineren Cyste beträgt 0,6 mm. Der Raum zwischen den beiden Cystenwänden ist von einer feinkörnigen Masse (*b*) ausgefüllt. Während diese Cystenwände einen wesentlichen Unterschied in ihrem Aufbau gegenüber den oberflächlichen Cysten nicht aufweisen, zeigt die innere Cyste als Inhalt ein charakteristisches Gebilde, einen schlauchförmigen, S-förmig gekrümmten Körper mit verdicktem Vorderende. Letzteres besitzt sehr auffallende Stacheln an den Rändern, welche sich mit Eisenhämatoxylin schwarz färben. An der oberen Seite sitzen 4 größere Stacheln, von welchen jedoch nur der letzte seiner ganzen Länge nach getroffen ist. Die Länge desselben beträgt 6 μ . Durch einen Zwischen-

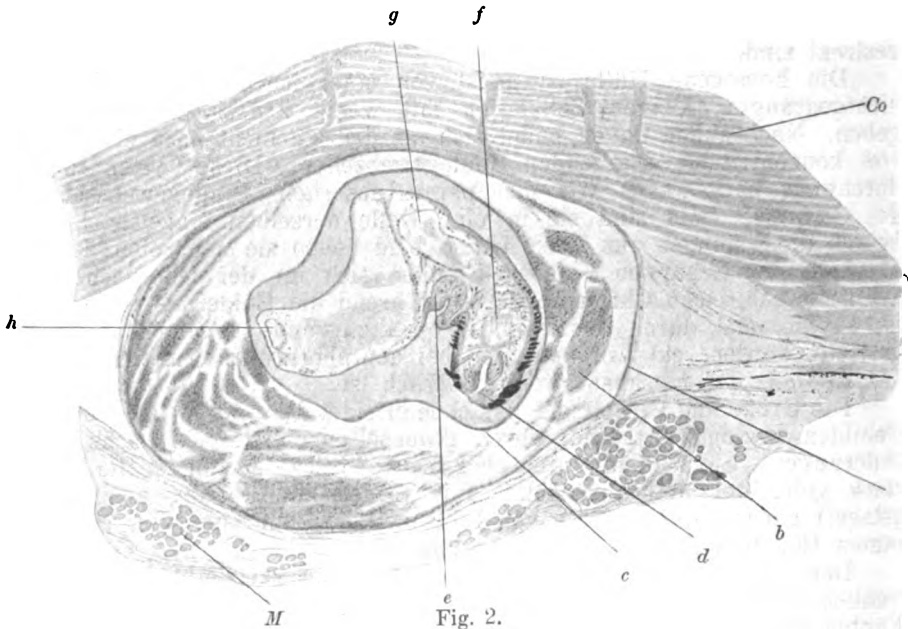


Fig. 2.

raum getrennt, folgt dann nach rückwärts eine Reihe von ca. 30 kleineren Stacheln, welche nach rückwärts an Größe abnehmen. Auf der unteren Seite sind 2 größere Stacheln angeschnitten, dann folgen ebenfalls in einiger Entfernung 15 kleinere Stacheln. Die letzten erstrecken sich als punktförmige schwarze Gebilde bis auf die später zu beschreibende Oberlippe des Bauchnapfes. Die Stacheln sind mit der verbreiterten Basis in die Substanz der verdickten Körperhaut eingesenkt.

Die beiden Enden des Körpers sind abgerundet. Seine Konturen werden rückwärts von einer dünnen, scharf begrenzten Membran gebildet, an welche innen locker Zellen angelagert sind. Nach vorn zu, im Bereich der Stacheln, wird die Körperwand dicker, die Oberfläche ist nicht mehr glatt, sondern aufgelockert, sie zeigt eine deutliche Längsstreifung und eine auffallende Differenzierung am Vorderende (*d*), sowie in der Konkavität (*e*) an der unteren Fläche, welche letztere wir als Bauchfläche bezeichnen können.

Das Vorderende besitzt einen axial verlaufenden Spalt, im Innern einer zelligen Masse. Wir sehen Fasern auf die Begrenzung des Spaltes palisadenförmig ausstrahlen und zahlreiche polygonale Zellen in diese Fasern eingelagert. Eine scharfe, rückwärts konvexe Linie bildet die Begrenzung dieses Gebildes. Als Fortsetzung des Spaltes erscheint weiter rückwärts ein rundliches Lumen (*b*), von dünnen Querfasern überdacht. Noch weiter rückwärts in der Gegend der Konkavität erstreckt sich ein zweites, größeres und längs der Rückenfläche nach rückwärts verlaufendes Gebilde (*g*), welches an seiner Begrenzungslinie eingelagerte Kerne enthält. Das Innere dieses letzten Lumens ist mit einer feingranulierten Masse ausgefüllt. Ein ähnliches, kleineres und quergestelltes Gebilde (*h*) liegt im Hinterende.

Im Grunde der Konkavität der Bauchfläche zieht eine schmale Einbuchtung in die Tiefe, welche ebenso wie der Spalt im Vorderende von palisadenartigen mit zahlreichen polygonalen Zelleinlagerungen versehenen Fasern umstellt ist, die nach innen bis zu einer nach unten konkaven und scharfen Begrenzungslinie ziehen. Der Eingang zum Spalt wird von einer größeren Oberlippe und einer kleineren Unterlippe begrenzt.

Die vordere Hälfte des Körpers zeigt in ihrem Innern außerdem quere Zellfaserstränge, welche nach vorn zu immer dichter werden; die hintere Körperhälfte besitzt bloß eine detritusartige Masse in ihrem Innern, der übrige Raum ist leer.

Der Raum zwischen dem beschriebenen Körper und der inneren Kapsel ist von einer feinwabigen Masse ausgefüllt, jedenfalls geronnenem Eiweiß.

Trotz der Unvollkommenheit des histologischen Bildes und der Unmöglichkeit, abgesehen von mehreren brauchbaren Schnitten eine zusammenhängende Serie herzustellen, läßt sich die Rekonstruktion aus dem beschriebenen und den übrigen vorhandenen Schnitten bis zu einem gewissen Grade leicht herstellen. Wir haben zweifellos einen Trematoden vor uns. In ausgestrecktem Zustande beträgt seine Länge ca. 1 mm. Es sind zwei Saugnäpfe vorhanden. Der Mundsaugnaf (*d*) ist tief und durch eine enge Oeffnung mit der Außenwelt in Verbindung. Auch der Bauchsaugnaf (*e*) ist tief eingezogen und durch vorstehende Lippen begrenzt. (Der gezeichnete Schnitt scheint seitlich von der Mittellinie in sagittaler Richtung ziemlich durch das ganze Tier angelegt zu sein.) Die beiden Saugnäpfe repräsentieren sich annähernd von gleicher Größe. Auf einem zweiten Präparate ist in der Höhe des vorderen Randes des Bauchsaugnafes ein großes kugeliges Gebilde zu sehen, das dem Pharynx entsprechen dürfte. Die angeschnittenen Lumina sind auf den Darm zu beziehen (*f*, *g*, *h*).

Die Deutung des hintersten Lumens (*h*) als Harnblase halte ich nach dem sonstigen Verhalten nicht für zutreffend. Der ganze Vorderkörper bis auf den Bauchsaugnaf ist mit Stacheln besetzt, und zwar unterscheiden wir größere Stacheln, welche auf dem Kopfende sitzen und kleinere Stacheln, welche die übrigen Partien bekleiden und von ersteren durch eine stachellose Zone getrennt sind.

Die Anordnung der großen Stacheln ist nicht ganz klar. Wir bekommen einerseits den Eindruck eines schief über das Kopfende hinüberziehenden Doppelkranzes, dessen Stacheln miteinander alternieren, andererseits findet sich noch außerdem ein Besatz mit großen Stacheln. Geschlechtsorgane sind nicht nachweisbar.

Nach diesen Merkmalen können wir den Parasiten in das Subgenus

Echinostomum (Rud.) einreihen. Nach Monticelli sind diese den Distomidae und dem Subordo Malacocotylea zuzurechnen. Bei dem Fehlen der Geschlechtsorgane haben wir jedenfalls eine Larvenform vor uns.

In „Bronn, Klassen und Ordnungen“ sind 5 Species dieses Genus angeführt, darunter 2, nämlich das *Distomum acanthocephalum* und *D. bicoronatum* als Fischparasiten, das erste aus dem Darm von *Umbalina*, das zweite von *Belone*. Beide hat Stossich beschrieben.

In einer weiteren Arbeit stellt Stossich die sämtlichen bisher in Triest und Umgebung beobachteten Species des Genus *Echinostoma* zusammen. Die zitierten und beschriebenen 13 Species bewohnen sämtlich den Darmtrakt, 9 sind Fischparasiten, nur für 1 Species, nämlich *Ech. cesticillus* (*bicoronat.*) ist auch *Zeus faber* als Wirtstier angeführt.

Diese Art erreicht eine Länge von 9 mm und besitzt einen doppelten Hakenkranz zu je 12 Haken, von welchen die ersten größer, die zweiten kleiner sind. Der Pharynx ist groß und birnförmig, der Darm reicht bis zum hinteren Ende.

Als Larvenform wird das *Agamodistomum* (früher *Distomum*) *valdeinflatum* genannt, welches eingekapselt in kleinen, durchsichtigen Cysten in der Leibeshöhle von *Gobius jazo* vorkommt. Diese Form erreicht eine Länge von 2,5–3 mm, der Körper ist bis zur Mitte mit Stacheln besetzt, welche nach rückwärts immer kleiner werden. Der Mundsaugnapf ist eingezogen und von einem doppelten Gürtel von je 16 bis 20 Haken besetzt. Der Oesophagus ist lang, oberhalb des Bauchsaugnapfes ist ein sehr ausgedehnter Pharynx vorhanden. Geschlechtsorgane fehlen.

Monticelli hat Cysten mit Trematodenlarven an den Kiemenblättern von *Box salpa* beobachtet. Nach seiner Beschreibung handelt es sich auch hier um ein *Agamodistomum* (= *Dist.*) *valdeinflatum*. Monticelli schließt sich der schon früher von Stossich geäußerten Ansicht an, daß diese Formen Jugendstadien von *Echinost. cesticillus* seien, wofür letzteres er als identisch mit *Dist. coronatum* erklärt.

Obwohl eine gewisse Ähnlichkeit zwischen der beschriebenen Form und unserem Trematoden vorhanden ist, scheinen die beiden doch nicht identisch zu sein. Trotz der Unvollständigkeit des Präparates sind die Unterschiede in der Anordnung der Haken und in der Größe augenfällig. Interessant sind die Angaben über die Cystenwand. Monticelli unterscheidet eine äußere, konsistente, aus Bindegewebe bestehende und vom Wirtsgewebe gebildete Kapsel und eine im Innern gelegene, hyaline Cyste.

Wir finden also die gleiche Cystenbildung wie bei unserem Wurm. Als Eigenprodukt des Parasiten ist die innere homogene Cyste anzusehen. Sie wird nach Leuckart von Drüsen mit grobkörnigem Inhalt geliefert, welche sich an der Bauchfläche in den Seitenteilen von vorn nach rückwärts erstrecken. Linstow gibt für *Zeus faber* überhaupt kein *Echinostomum* an. Da ich auch in der neueren Literatur keine diesbezügliche Angaben finde, haben wir höchstwahrscheinlich eine noch nicht beschriebene Species vor uns. Bei der Unvollkommenheit der Beschreibung unterlasse ich die weitere Benennung.

Obwohl, wie schon früher erwähnt, dieser Trematode nur ein einziges Mal und zwar unterhalb der Coriurnschicht gefunden wurde und in den

zahlreichen oberflächlichen Cysten nur sehr spärlich Elemente gefunden werden, die als Teile eines Parasitenleibes angesprochen werden können, erscheint es sicher, daß auch diese oberflächlichen Cysten, somit die Hautwucherungen auf derartige eingewanderte Trematoden zurückzuführen sind. Dafür spricht vor allem die Analogie in den Schichten der Cystenwandung.

Allerdings erscheint bei den oberflächlichen Cysten die homogene Kapsel dicker, die Bindegewebsschicht viel reichlicher entwickelt. Wir müssen annehmen, daß die Parasiten nach dem Durchdringen des Coriums bald abgestorben sind. Gewiß ist dabei auffallend, daß auch die Chitinstacheln vollständig zugrunde gegangen sind. Möglicherweise sind die vielfach vorhandenen Körner auf solche veränderte Stacheln zurückzuführen, da sie sich ebenfalls mit Eisenhämatoxylin intensiv färben. Vielleicht sind sie aber auch Reste des körnigen Inhaltes der Bauchdrüsen.

Jedenfalls stellen die oberflächlichen Cysten ältere Stadien dar, da die Reaktion der Umgebung schon weiter gediehen ist. Wir müssen uns demgemäß vorstellen, daß eine größere Anzahl von Trematodenlarven, wahrscheinlich vom Darm aus, auf dem Wege der Blutbahn oder aktiv an die Peripherie gewandert sind.

Die meisten Trematodenlarven haben dann die Coriumschicht durchbrochen, und sind unter der Epidermisschicht liegen geblieben. Sie haben sich dann sämtlich eingekapselt, indem sie zuerst die Fibrincyste erzeugten. Auf dem Wege der reaktiven Entzündung sind dann die anderen Cystenelemente hervorgegangen. Der Parasitenleib ist dann überall zugrunde gegangen, und nur eine detritusartige Masse ist zurückgeblieben. Der umgekehrte Weg, nämlich eine Einwanderung durch die Haut nach innen, erscheint mir nicht wahrscheinlich, obwohl eine solche Einwanderung von parasitischen Würmern nach den Untersuchungen von Looss über *Ankylostomum* nicht unmöglich wäre.

Encystierte Parasiten an der Hautoberfläche bei Fischen sind vor allem unter den Protozoen bekannt. Am häufigsten kommt der *Ichthyophthirius* in dieser Form vor, welcher in mohnkorngroßen Pusteln an der Hautoberfläche von Fischen oft in großer Zahl nistet, ferner ist dies auch für *Myxosporidien* beschrieben. Für den *Ichthyophthirius* gilt als einziger Weg das Eindringen von außen, welches von der bewimperten Larvenform bewerkstelligt wird. Bei der Cystenbildung, die hier nur in den oberflächlichsten Schichten der Epidermis sich abspielt, beteiligen sich auch die umliegenden Epithelzellen.

Von Trematoden ist hauptsächlich das *Holostomum cuticola* Nordmann bei verschiedenen Weißfischarten beschrieben worden, welches als Larvenform ebenfalls 1 mm lange Cysten in der Haut bildet und dort schwarze Flecken erzeugt. Nordmann verlegt den Standort seines Parasiten unter die Epidermis, unter die Schuppen, aber auch tiefer in die Muskulatur(?) und schreibt den Cysten eine destruktive Wirkung auf die Umgebung zu. Leider fehlen Angaben über den Aufbau der Cysten. Es ist ferner auch nicht eruiert, auf welchem Wege das Eindringen in die Haut zustande kommt. Der Weg von außen erscheint auch für diesen Parasiten nicht plausibel, da keine entsprechende Bewaffnung vorhanden ist. Weitere Angaben über Trematoden in der Haut sind in der Literatur sehr spärlich. Häufiger ist dieses Vorkommen an den Kiemen verzeichnet, welches Organ ja auch sehr häufig Cysten von Protozoen, insbesondere *Myxosporidien* beherbergt. Bei einer Abfischung fand ich bei allen Zandern zahlreiche Knötchen mit *Henneguya* an den Kiemenblättern.

Nachdruck verboten.

Die Bindungsverhältnisse der Organgewebe gegenüber Toxinen und ihre klinische Bedeutung für Inkubation und natürliche Immunität.

[Aus dem Laboratorium der kgl. med. Universitätspoliklinik Berlin
(Direktor: H. Senator).]

Von Dr. **Alfred Wolff-Eisner**

nach gemeinschaftlich mit Dr. Ludwig Laband angestellten Versuchen.

Mit 2 Figuren.

Einleitung.

Im Jahre 1904 veröffentlichte ich im Centralblatt für Bakteriologie und in der Berliner klinischen Wochenschrift eine Arbeit über Grundsätze der Immunität. Der Hauptinhalt läßt sich in einigen Sätzen zusammenfassen.

Nach wiederholter Injektion körperfremder Eiweißsubstanzen entsteht keine Immunität, sondern eine Ueberempfindlichkeit. Die sogenannten Endotoxine sind nichts anderes als körperfremdes Eiweiß, in ihrer Giftigkeit ebenso unterschieden wie die einzelnen Eiweißarten.

Der Angriffspunkt sämtlicher Gifte ist das Gehirn, der Tod ein Gehirntod. Dieser Satz war für die endotoxischen Gifte ein Analogieschluß, beruhend auf Versuchen mit Toxinen, weil man mit körperfremdem Eiweiß nicht quantitativ arbeiten kann wie mit Toxinen. Meine weiteren Versuche zeigten mir, daß es wahrscheinlich richtig ist, hier einen Analogieschluß zu ziehen. Der folgende Abschnitt über die Grenzen der Serumtherapie ist ohne Beziehung zu unserem heutigen Thema.

In der vorliegenden Arbeit, die sich mit den Bindungsverhältnissen der Organe gegenüber Toxinen beim empfänglichen und beim natürlich immunen Tier beschäftigt, sind auch die Protokolle mitgeteilt, auf denen meine damaligen Schlußfolgerungen über die Filterwirkung der Organe basieren, welche das Gift vom Gehirn fernhalten, deren Mitteilung ich seiner Zeit versprochen hatte. Daß die Einlösung dieses Versprechens erst nach 4 Jahren erfolgt, liegt nur an äußeren Verhältnissen, da die Arbeit infolge des Zweckes, zu dem sie dienen sollte, statutengemäß nicht publiziert werden durfte.

Ich hatte damals der Kürze wegen meine Versuchsprotokolle nicht mitgeteilt, wodurch zum Teil mißverständliche Deutungen entstanden sind. Dies und noch mehr die Bedeutung, welche inzwischen auch in klinischer Beziehung das Studium der Ueberempfindlichkeit gewonnen hat, veranlaßt mich, inzwischen nicht überholte alte und neuere hinzugekommene Versuche hier zu veröffentlichen. Äußere Verhältnisse haben es bewirkt, daß in unserer schnelllebigen Zeit das Horazsche Nonum prematur in annum, das dieser Autor so wenig wie andere Autoren selbst immer innehielt, wenigstens zur Hälfte erfüllt wurde. Die 4^{1/2} Jahre der Selbstkritik sind hoffentlich der kritischen Bewertung der Befunde zu gute gekommen.

Ich danke meinem damaligen Chef, Hermann Senator, für die Unterstützung bei diesen Arbeiten, die es mir allein ermöglichte, daß ich

unter den beschränktesten äußeren Verhältnissen an die Bearbeitung so umfangreicher und komplizierter Versuche gehen konnte.

Die vollständige Lösung des Problems über das Wesen der Immunität muß auch praktische therapeutische Erfolge in sich schließen. Aus der Tatsache, daß die praktischen Erfolge der Arbeit über Immunität seit längerer Zeit zum Stillstand gekommen sind, können wir wohl mit Recht den Schluß ziehen, daß trotz aller auf diesen Forschungszweig verwandten Arbeit das Rätsel der Immunität noch keine Lösung gefunden hat, und manche Einzeltatsachen, die in den letzten Jahren bekannt geworden sind, zeigen, daß wir uns immer noch erst im Anfange einer Entwicklung befinden.

Der Immunitätsforscher steht gewissermaßen zwischen Scylla und Charybdis, zwischen zwei Gefahren, die beide seiner Arbeit gleich gefährlich zu werden drohen. Die eine Gefahr ist das Verlieren in uferlose Spekulationen. „Die geniale Ehrlichsche Idee der Antikörperbildung sucht man auszubauen, richtiger gesagt, zu übertrumpfen durch Aufstellung von Antikörpern, die gegen die Antikörper von Antikörpern gerichtet sind. Eine so weitschweifende Phantasie verliert schließlich infolge Unübersichtlichkeit der technischen Versuchsanordnung alle realen experimentellen Unterlagen und bringt dadurch selbst die gesicherten Tatsachen in weiteren ärztlichen Kreisen bei Klinikern und Praktikern vielfach in Mißkredit. Von den vielen Beispielen dieser Spekulation ohne sicheres Fundament möchte ich nur an die vielgenannten Antikomplemente erinnern, für die eine exakte Nachweismethode überhaupt nicht bestand, und die jetzt wieder aus der Literatur verschwinden, allerdings um in der Metamorphose der Komplementbindung von neuem zu erstehen (cf. Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 4. Kongr. f. Mikrobiol. 1906. 8. Juni).

Die andere Gefahr ist ein zu starres Festhalten an der Seitenkettentheorie. Diese größte Schöpfung Ehrlichs ist uns ein vertrauter Führer in dem vielverschlungenen Gebiet der Immunitätserscheinungen geworden, und ohne diesen hätten wir in dem gewundenen Labyrinth vielleicht niemals einen Weg gefunden. Aber die Theorie ist noch nicht die abstrakte Wahrheit, sondern ein Mittel, in Annäherung der Wahrheit näherzukommen, eine Hilfs- und Arbeitstheorie, welche nicht die Form eines Dogmas annehmen darf.

Der Sturm auf Grubers¹⁾ gegen die Ehrlichsche Seitenkettentheorie hat zu keinem Erfolg geführt, weil Gruber nichts an die Stelle des Niederzureißenden zu setzen hatte, und weil man nicht in der Weise, wie Gruber es versucht hat, die jahrelange Arbeit der besten Experimentatoren vernichten kann. So wenig ich mir die Gruberschen Argumente zu eigen mache, scheint doch allmählich der Zeitpunkt näherzurücken, wo sich ein zu dogmatisches Festhalten an der Seitenkettentheorie als eine Fessel der weiteren Forschung erweist, wo es notwendig erscheint, die sich mit der Seitenkettentheorie nicht vereinigenden Tatsachen zu sammeln, um allmählich zu einer Umbildung der in Fluß befindlichen Anschauungen zu kommen.

Nach der herrschenden Ehrlichschen Anschauung gibt es folgende Arten von Immunität: Antikörperimmunität, d. h. Immunität bewirkt durch das Vorhandensein von Antikörpern, die von Geburt an vorhanden sind, und zwar entweder als Eigenschaft der betreffenden Tierspecies,

1) Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 28, 29, 42.

Nachdruck verboten.

Die Bindungsverhältnisse der Organgewebe gegenüber Toxinen und ihre klinische Bedeutung für Inkubation und natürliche Immunität.

[Aus dem Laboratorium der kgl. med. Universitätspoliklinik Berlin
(Direktor: H. Senator).]

Von Dr. Alfred Wolff-Eisner

nach gemeinschaftlich mit Dr. Ludwig Laband angestellten Versuchen.

Mit 2 Figuren.

Einleitung.

Im Jahre 1904 veröffentlichte ich im Centralblatt für Bakteriologie und in der Berliner klinischen Wochenschrift eine Arbeit über Grundgesetze der Immunität. Der Hauptinhalt läßt sich in einigen Sätzen zusammenfassen.

Nach wiederholter Injektion körperfremder Eiweißsubstanzen entsteht keine Immunität, sondern eine Ueberempfindlichkeit. Die sogenannten Endotoxine sind nichts anderes als körperfremdes Eiweiß, in ihrer Giftigkeit ebenso unterschieden wie die einzelnen Eiweißarten.

Der Angriffspunkt sämtlicher Gifte ist das Gehirn, der Tod ein Gehirntod. Dieser Satz war für die endotoxischen Gifte ein Analogieschluß, beruhend auf Versuchen mit Toxinen, weil man mit körperfremdem Eiweiß nicht quantitativ arbeiten kann wie mit Toxinen. Meine weiteren Versuche zeigten mir, daß es wahrscheinlich richtig ist, hier einen Analogieschluß zu ziehen. Der folgende Abschnitt über die Grenzen der Serumtherapie ist ohne Beziehung zu unserem heutigen Thema.

In der vorliegenden Arbeit, die sich mit den Bindungsverhältnissen der Organe gegenüber Toxinen beim empfänglichen und beim natürlich immunen Tier beschäftigt, sind auch die Protokolle mitgeteilt, auf denen meine damaligen Schlußfolgerungen über die Filterwirkung der Organe basieren, welche das Gift vom Gehirn fernhalten, deren Mitteilung ich seiner Zeit versprochen hatte. Daß die Einlösung dieses Versprechens erst nach 4 Jahren erfolgt, liegt nur an äußeren Verhältnissen, da die Arbeit infolge des Zweckes, zu dem sie dienen sollte, statutengemäß nicht publiziert werden durfte.

Ich hatte damals der Kürze wegen meine Versuchsprotokolle nicht mitgeteilt, wodurch zum Teil mißverständliche Deutungen entstanden sind. Dies und noch mehr die Bedeutung, welche inzwischen auch in klinischer Beziehung das Studium der Ueberempfindlichkeit gewonnen hat, veranlaßt mich, inzwischen nicht überholte alte und neuere hinzugekommene Versuche hier zu veröffentlichen. Außere Verhältnisse haben es bewirkt, daß in unserer schnelllebigen Zeit das Horazsche Nonum prematur in annum, das dieser Autor so wenig wie andere Autoren selbst immer innehielt, wenigstens zur Hälfte erfüllt wurde. Die 4½ Jahre der Selbstkritik sind hoffentlich der kritischen Bewertung der Befunde zu gute gekommen.

Ich danke meinem damaligen Chef, Hermann Senator, für die Unterstützung bei diesen Arbeiten, die es mir allein ermöglichte, daß ich

unter den beschränktesten äußeren Verhältnissen an die Bearbeitung so umfangreicher und komplizierter Versuche gehen konnte.

Die vollständige Lösung des Problems über das Wesen der Immunität muß auch praktische therapeutische Erfolge in sich schließen. Aus der Tatsache, daß die praktischen Erfolge der Arbeit über Immunität seit längerer Zeit zum Stillstand gekommen sind, können wir wohl mit Recht den Schluß ziehen, daß trotz aller auf diesen Forschungszweig verwandten Arbeit das Rätsel der Immunität noch keine Lösung gefunden hat, und manche Einzeltatsachen, die in den letzten Jahren bekannt geworden sind, zeigen, daß wir uns immer noch erst im Anfange einer Entwicklung befinden.

Der Immunitätsforscher steht gewissermaßen zwischen Scylla und Charybdis, zwischen zwei Gefahren, die beide seiner Arbeit gleich gefährlich zu werden drohen. Die eine Gefahr ist das Verlieren in uferlose Spekulationen. Die geniale Ehrlichsche Idee der Antikörperbildung sucht man auszubauen, richtiger gesagt, zu übertrumpfen durch Aufstellung von Antikörpern, die gegen die Antikörper von Antikörpern gerichtet sind. Eine so weitschweifende Phantasie verliert schließlich infolge Unübersichtlichkeit der technischen Versuchsanordnung alle realen experimentellen Unterlagen und bringt dadurch selbst die gesicherten Tatsachen in weiteren ärztlichen Kreisen bei Klinikern und Praktikern vielfach in Mißkredit. Von den vielen Beispielen dieser Spekulation ohne sicheres Fundament möchte ich nur an die vielgenannten Antikomplemente erinnern, für die eine exakte Nachweismethode überhaupt nicht bestand, und die jetzt wieder aus der Literatur verschwinden, allerdings um in der Metamorphose der Komplementbindung von neuem zu erstehen (cf. Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 4. Kongr. f. Mikrobiol. 1906. 8. Juni).

Die andere Gefahr ist ein zu starres Festhalten an der Seitenkettentheorie. Diese größte Schöpfung Ehrlichs ist uns ein vertrauter Führer in dem vielverschlungenen Gebiet der Immunitätserscheinungen geworden, und ohne diesen hätten wir in dem gewundenen Labyrinth vielleicht niemals einen Weg gefunden. Aber die Theorie ist noch nicht die abstrakte Wahrheit, sondern ein Mittel, in Annäherung der Wahrheit näherzukommen, eine Hilfs- und Arbeitstheorie, welche nicht die Form eines Dogmas annehmen darf.

Der Sturmhauf Grubers¹⁾ gegen die Ehrlichsche Seitenkettentheorie hat zu keinem Erfolg geführt, weil Gruber nichts an die Stelle des Niederzureißenden zu setzen hatte, und weil man nicht in der Weise, wie Gruber es versucht hat, die jahrelange Arbeit der besten Experimentatoren vernichten kann. So wenig ich mir die Gruberschen Argumente zu eigen mache, scheint doch allmählich der Zeitpunkt näherzurücken, wo sich ein zu dogmatisches Festhalten an der Seitenkettentheorie als eine Fessel der weiteren Forschung erweist, wo es notwendig erscheint, die sich mit der Seitenkettentheorie nicht vereinigenden Tatsachen zu sammeln, um allmählich zu einer Umbildung der in Fluß befindlichen Anschauungen zu kommen.

Nach der herrschenden Ehrlichschen Anschauung gibt es folgende Arten von Immunität: Antikörperimmunität, d. h. Immunität bewirkt durch das Vorhandensein von Antikörpern, die von Geburt an vorhanden sind, und zwar entweder als Eigenschaft der betreffenden Tierspecies,

1) Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 28, 29, 42.

durch Vererbung oder Säugung von älteren Tieren, die durch das Ueberstehen einer Infektion oder Intoxikation aktiv immun geworden sind, auf den Fötus übertragen (vererbte und ersäugte Antikörperimmunität).

Die Immunität, die ohne Ueberstehen einer Infektion bei einer Tier-species von selbst vorhanden ist, würde man in gleichem Sinne mit Recht als natürliche Immunität bezeichnen, wenn nicht der Fall außerordentlich häufig wäre, daß im Serum dieser natürlich immunen Tiere keine Antitoxine nachweisbar sind. Ehrlich nimmt für diese Fälle an, daß das betreffende immune Tier, das keine Antitoxine im Serum aufweist, auch keine Rezeptoren hat, an denen das Toxin mit seiner haptophoren Gruppe angreifen könnte. Das Toxin kreist dann lange unverändert in den Säften, und es schien eine gute Stütze dieser Auffassung zu sein, daß bei dem von Natur gegen Tetanus immunen Huhn und Krokodil tatsächlich das Toxin sehr lange in der Blutbahn nachweisbar ist. Nach Ehrlich (Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 33/34) kann dann weiter eine Immunität noch durch Schwund vorhandener Rezeptoren entstehen, durch Bildung sessiler Rezeptoren im Bindegewebe, durch Giftgewöhnung ohne Immunkörperproduktion und durch den Adaptionsapparat im Sinne Metschnikoffs.

Diese Annahmen der theoretischen Möglichkeiten der Immunitätsentstehung sind ja zahlreich genug, entsprechend der Kompliziertheit der hier vorliegenden Verhältnisse. Aber diese Vielheit läßt keine Befriedigung aufkommen, es scheint kein Gesetz, sondern absolute Willkür zu herrschen. Um aus vielen Beispielen einzelne herauszugreifen: Man kann Fische gegen Abrin immunisieren, ohne daß Antitoxine auftreten, nach Metschnikoff sind niedere Tiere überhaupt ungeeignet zur Antitoxinbildung, bei Hunden lassen sich nur sehr schwer Präzipitine erzeugen! Aber nicht nur bei den einzelnen Species bestehen Differenzen, auch sehr bedeutende individuelle Schwankungen sind vorhanden, deren Klärung ein ebenso dringendes Bedürfnis für die Immunitätsforschung wie auch besonders für **die Klinik** ist, welcher die bakteriologische Forschung für das Verständnis der individuellen Differenzen bisher nur wenig geleistet hat. Eine Klärung muß an einem bisher noch wenig bearbeiteten Hauptstück der Immunitätslehre einsetzen. Wir wissen bisher noch gar nichts Genaueres, wie sich die Antikörper zu den Gewebsrezeptoren in ihrem Bindungsvermögen gegen Toxine verhalten. Nach der Ehrlich'schen Anschauung sind die Antikörper ja überhaupt nichts anderes, als abgestoßene Zellrezeptoren. Diese gemeinsame Abstammung schließt es aber durchaus nicht aus, daß das Bindungsvermögen im „Puppen- und Schmetterlingsstadium“ ein verschiedenes sein könnte.

Eine der besten Stützen der Ehrlich'schen Seitenkettentheorie ist der berühmte Wassermann'sche¹⁾ Befund, daß die Gehirnschubstanz Tetanustoxin bindet. Wenn die Seitenkettentheorie überhaupt noch eines Beweises bedurft hätte, so war er hier nach der Meinung Aller erbracht; die schönste Illustration des Ehrlich'schen Satzes: Eisen im Haus zieht den Blitz an, Eisen am Haus — als Blitzableiter — hält ihn fern! Abgestoßene Rezeptoren als Antitoxin im Serum verhindern Erkrankung am Tetanus, Rezeptoren **im** Gehirn ziehen das Toxin an die speziell für Tetanus empfindlichen Stellen und bewirken den Ausbruch der Erkrankung, indem sie die Giftwirkung auf die funktionierende Plasma-gruppe übertragen. Dönitz²⁾ zeigte dann allerdings, daß beim Kaninchen

1) Berl. klin. Wochenschr. 1898. No. 1.

2) Dtsche med. Wochenschr. 1897. No. 27.

noch außer im Gehirn in anderen Organen Rezeptoren für das Tetanustoxin vorhanden sind. Durch diesen Befund wurde das Ehrlichsche Prinzip durchbrochen, daß man Rezeptoren nur in den für das Gift spezifisch empfindlichen Organen vorfinden könne, doch wurde dieser Befund einfach als spezieller nur für das Kaninchen zutreffender Fall angesprochen (cf. z. B. eine der besten Zusammenfassungen über das in Frage stehende Gebiet in Kolle-Wassermann, Handbuch, Oppenheimer, Die Toxine).

Gegen die Identität der Gehirnrezeptoren mit den in das Serum abgestoßenen Rezeptoren, den Antitoxinen, haben sich schon seit langer Zeit Stimmen erhoben, so Metschnikoff und Marie (zitiert nach Detre, Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 49). Diese Forscher haben angeführt, daß Antitoxine im Wasser löslich sind, während das antitoxische Prinzip, das Detre und Sellei als ein Gehirnzellenlipoid auffassen (cf. Klemperer und Schepilewski, Zeitschr. f. Hygiene. 1898), nicht wasserlöslich ist. Doch scheint dieser Einwand nicht durchgreifend zu sein, da ja schon die sessilen und abgestoßenen Rezeptoren verschiedene Eigenschaften haben können, z. B. eine verschiedene Affinität zum Toxin. Die Frage ist bisher also als unentschieden zu betrachten. Die vorliegenden Untersuchungen sind jedoch geeignet, in einigen Punkten das bestehende Dunkel aufzuhellen.

Unsere Untersuchungen haben nämlich zu dem unerwarteten Resultat geführt, daß die Rezeptoren, wenn wir diesen Ausdruck beibehalten wollen, in den Organen nicht **einheitlich** sind. Die Versuche wurden mit verschiedenen Toxinen angestellt, die Mehrzahl mit Tetanustoxin. Dieses ist für derartige Versuche besonders geeignet, weil es möglich ist, auch die leichteren Stadien der Intoxikation klinisch zu erkennen und man nicht, wie bei einer Reihe anderer Toxine, auf die Ergebnisse der Sektion angewiesen ist, um zu erkennen, ob es sich überhaupt um einen Toxintod handelt.

Die Wirkungen des Tetanustoxins sind in vielen Beziehungen völlig ausreichend studiert, so die Empfänglichkeit der verschiedenen Tier-species, die individuelle Empfänglichkeit und vieles andere mehr. Die Giftigkeit des Toxins ist eine so große, daß es nichts Außergewöhnliches ist, wenn 0,000001 g Tetanustoxin ein Meerschweinchen von 200 g oder eine Maus von 16—17 g in 4 Tagen tetanisch tötet, woraus zugleich hervorgeht, daß, auf das Gramm Tiergewicht bezogen, das Meerschweinchen empfindlicher gegen Tetanustoxin ist als die Maus [10—12mal gegenüber Behrings (Fortschr. d. Med. Bd. XVII) Angabe, daß die Empfindlichkeit 6mal größer ist; nach Knorr (Münch. med. Wochenschr. 1898. p. 321 u. 362) ist die Giftigkeit für Meerschweinchen $6\frac{1}{2}$ mal größer, variiert aber nach dem Gift]. Ueber Versuche zur Steigerung der Giftwirkung siehe Brieger-Cohn, zit. nach Blumenthals Monographie. Das Huhn braucht pro Gramm des Tieres ca. 100 000mal soviel Gift (nach Knorr) als das Meerschweinchen, d. h. ein Huhn von 4 Pfd. braucht von unserem Gift, von dem $\frac{1}{1000000}$ g eine Maus von 20 g und ein Meerschweinchen von 200 g tötet, 1 g des Trockengiftes. 1 g Kaninchen braucht zur Erzielung des Tetanus die ca. 1000-fache Dosis des Meerschweinchens¹⁾).

1) Wie verschieden die Gifte sein können, welche einzelne Untersucher in der Hand gehabt haben, geht aus der Mitteilung von Ehrlich (Münch. med. Wochenschr.

Behring und Knorr haben bei ihren Versuchen außerordentlich starke individuelle Schwankungen beobachtet (Variieren bis zum 6-fachen der einfach tödlichen Dosis; ähnliche Differenzen habe ich mit unserem Gift nicht beobachtet).

Bei der Tetanusgiftinverleibung kommt die subkutane, intravenöse, intradurale, intracerebrale (intercerebral wie Oppenheimer schreibt, erscheint mir nicht richtig) und die enterale Aufnahme in Betracht. Letztere haben wir vernachlässigt, da nach Nencki (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIII. p. 842) und Carrière (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIII. p. 435) die Verdauungssäfte das Tetanusgift zerstören. Bei der subkutanen Injektion wird das Gift sehr schnell resorbiert. Eine in den Schwanz infizierte Ratte ist durch Schwanzamputation 2—3 Stunden nach Toxininjektion nicht mehr zu retten.

Bei den meisten Giften treten bei intravenöser Giftinjektion alle Krankheitserscheinungen schneller auf als bei der subkutanen, z. B. bei der Injektion von Typhusgiften ist die Giftwirkung bei dieser Einverleibung 15—20mal stärker als bei peritonealer und subkutaner (Meyer-Bergell, Aronson, Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 18). Bei der Tetanusgiftinjektion habe ich von der Injektionsart keine Unterschiede gesehen im Sinne vermehrter Giftwirkung, vor allem bei der intravenösen Giftinverleibung keine Abkürzung der Inkubationszeit, sondern eher eine Verlängerung (ebenso Dönitz, Knorr), (nach Eisler und Präbram [Fischer. 1907. p. 121] braucht man zur intravenösen Intoxikation sogar die 8—10-fache Dosis.)

Zwischen krankmachender und letaler Dosis des Tetanustoxins liegt ein Intervall, das nach Gift und Tierart schwankt. Ich habe in einer früheren Veröffentlichung (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 44) gezeigt, daß man dieses Intervall zwischen Dosis letalis und Dosis efficax experimentell vergrößern kann. Das mit Salzsäuregas bei der Temperatur der flüssigen Luft behandelte Tetanustoxin hat die Eigenschaft erhalten, daß die 400-fach tödliche Dosis des Giftes nach der Salzsäurebehandlung nicht mehr tötet, während die krankmachende (krampferzeugende) Dosis unverändert geblieben ist.

Während es bei subkutaner oder intravenöser Giftinjektion selbst bei Einverleibung kolossaler Giftdosen nicht gelingt, die Inkubationszeit unter ein gewisses Minimum (bei Mäusen 8 Stunden) herunterzudrücken, ist diese bei intraduraler und vor allem bei intracerebraler Giftinjektion sehr verkürzt (Roux und Borrel, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XII), unter Umständen sogar aufgehoben. Diese stellten fest, daß nur beim Kaninchen bei intracerebraler Injektion kleinere Dosen zur Intoxikation genügen als bei subkutaner Einverleibung, während beim Meerschweinchen auch bei intracerebraler Giftinjektion die zur Wirkung führende Dosis die gleiche bleibt. Diese scheinbar paradoxe Tatsache kann ich bestätigen, die weiteren Versuche bringen auch die Erklärung.

Der eben erwähnte Versuch mit der Schwanzamputation zeigt, daß das Gift schon nach ganz kurzer Zeit gebunden ist. Dieser Schluß ist um so zwingender, als in Blut und Lymphe schon nach ganz kurzer Zeit kein Toxin mehr nachzuweisen ist, wie mir zahlreiche Versuche in Bestätigung früherer Versuche anderer Autoren ergeben haben. Die

1903. No. 33/34) hervor, nach der Behring ein Tetanusgift besaß, das auf Kaninchen 100mal schwächer als auf Mäuse wirkte, während ein Gift von Tizzoni auf beide Tierarten gleich wirkte.

Ehrlichsche Schule — und ihre Anschauung ist in diesem Punkte die allein herrschende — nimmt an, daß das Tetanustoxin nur zu den Rezeptoren der Nervenzellen eine Affinität besitzt [auch Rehns (Soc. de biol. 1904. No. 31) nimmt an, daß beim Tetanustoxin sich die Affinität auf ein einziges Gewebe bezieht]. Durch diese Annahme soll es sich zwanglos erklären, daß bei direkter (intraduraler oder intracerebraler Injektion) die Inkubationszeit eine verkürzte ist, und ferner soll es sich erklären, daß bei refraktären, d. h. natürlich immunen Tieren das Toxin längere Zeit in der Blutbahn kreist. Dies scheint so den Tatsachen zu entsprechen und klingt so plausibel, daß man sich den dagegen sprechenden Tatsachen bisher verschlossen hat. Denn vom Kaninchen weiß man seit Dönnitz' Versuchen, daß außer dem Gehirn noch andere Organe Tetanus bindende Rezeptoren besitzen. Wir haben schon oben bemerkt, daß diese Feststellung bisher als Ausnahme angesehen wird. Als Beweis führe ich Oppenheimer an, der auf p. 101 seiner Toxine diesen Befund folgendermaßen registriert: „Eine Ausnahme stelltung nimmt ferner das Kaninchen ein, bei dem das Gift unter Umständen in überwiegendem Maße anderweitig gebunden werden kann, so daß das Tier am Tetanus sine tetano stirbt.“

Die oben erwähnte Tatsache, daß bei der Ratte die 2—3 Stunden nach der Injektion vorgenommene Schwanzamputation das Auftreten des Tetanus nicht verhindert, läßt, da auch im Kreislauf¹⁾ kein Toxin nachzuweisen ist, nur die Deutung zu: „Das Toxin ist gebunden, und da nach Ehrlich consensu omnium nur die Nervensubstanz Rezeptoren besitzen soll, gebunden an das Nervensystem.“

Da trotzdem zwischen Gifteinverleibung und Ausbruch der Erscheinungen eine längere Inkubationszeit besteht, muß man die Ursache der Inkubation in das Nervensystem selbst verlegen. Damit steht aber die Tatsache in einem gewissen Widerspruch, daß durch direkte Injektion in die Nähe des Nervensystems die Inkubation abgekürzt wird. Um die trotzdem bestehende, wenn auch verkürzte Inkubation zu erklären, kann man anführen, daß das Gift zwar vom Nervensystem aufgenommen werde, daß es aber doch noch in den Nervenbahnen zentralabwärts wandern müsse. In diesem Falle wäre die Bindung in der peripheren Nervenbahn noch nicht die endgültige Determinante der Erkrankung, sondern erst das Gelangen ins Zentralnervensystem.

Größere Schwierigkeiten macht die Erklärung der beobachteten Tatsache, daß beim infolge natürlicher Immunität refraktären Tier das Gift lange Zeit unverändert in der Blutbahn kreist. Ursprünglich eine glänzende Stütze der Seitenkettentheorie — im natürlich immunen Tier waren eben keine Rezeptoren vorhanden, um das Toxin zu binden — mußte das

1) Vergl. hierzu Blumenthal, Monogr. p. 9. Es findet sich das Tetanustoxin im Blute des Menschen in so geringen Mengen, daß man nach Stern (Dtsche med. Wochenschr. 1892) mindestens 2 ccm injizieren muß, um das vorhandene Gift nachzuweisen. Solche Mengen kann man aber bei der Maus nicht einführen, und es empfiehlt sich, zu derartigen Versuchsanordnungen Meerschweinchen zu verwenden (cf. die Empfindlichkeitstabellen).

Übrigens ist das Auftreten resp. das Verbleiben des Toxins im Blute bei den einzelnen Tierarten sehr verschieden. Nach Pestana (Soc. de biol. 1891. p. 511; Bull. méd. 1891), Knorr (Habilitationsschr. Marburg. 1895), Behring und Blumenthal (Dtsche med. Wochenschr. 1898. No. 12) ist beim Meerschweinchen das ganze eingespritzte Gift längere Zeit im Blute, beim Kaninchen verschwindet es sehr bald aus dem Kreislauf (Marie nach 18 Stunden nicht mehr nachweisbar, nach unseren Versuchen schon nach 3, cf. auch Versuche von Blumenthal-Lewandowski).

Verhalten der natürlich immunen Tiere in anderem Lichte erscheinen, als man in Erfahrung gebracht hatte, daß bei intracerebraler Injektion des Toxins das refraktäre Huhn ziemlich leicht zu vergiften ist (Oppenheimer, l. c. p. 98).

Merkwürdigerweise hat diese Tatsache bisher sehr wenig die Aufmerksamkeit auf sich gelenkt. Bei präziser Fragestellung ergeben sich sofort neue Probleme: Wenn beim Huhn das Zentralnervensystem wie bei anderen Tieren Rezeptoren besitzt, warum kreist das Toxin längere Zeit, bis Wochen lang, unverändert in den Säften, ohne daß die Rezeptoren des Nervensystems das Toxin an sich heranziehen?

Die Länge des zurückzulegenden Nervenweges von der Injektionsstelle bis zum Zentralnervensystem würde es nur verständlich machen, daß bei cerebraler Toxininjektion die Inkubationszeit verkürzt ist. Daß das Toxin auf dem Wege der Nervenleitung zum Zentralnervensystem gelangt, ist zurzeit die herrschende Ansicht für die Verbreitung des Tetanustoxins im Körper. Ich schließe mich im ganzen jedoch lieber Blumenthal an, der in seiner Monographie p. 20 sagt: „Es ist bisher in keiner Weise bewiesen, daß subkutan injizierte Substanzen in nur irgendwie in Betracht kommender Menge auf dem Nervenwege fortgeleitet würden“ und p. 19: „Daß das Tetanustoxin durch die Blutbahn verbreitet wird, ist vollkommen sichergestellt.“ Daß bei intravenöser Injektion überhaupt eine Infektion zu stande kommt, scheint mir an sich zu beweisen, daß das Tetanustoxin nicht **nur** auf dem Wege der Nervenbahnen zur Wirkung und zur Resorption gelangt, wie dies Meyer und Ransom (Arch. f. exper. Pathol. Bd. XLIX. p. 369) angenommen hatten. Das Gift soll nach ihnen im Achsencylinder hochwandern. Aus ihren eigenen Arbeiten lassen sich aber die Beweise hernehmen, daß das Gift auch noch auf anderen Bahnen zentralwärts gelangt. Durchschneidung der Nerven, ebenso Injektion von Antitoxin in den Nerven läßt die zu den Nerven gehörenden Zentren freibleiben; ginge das Toxin nur auf dem Wege der Nervenbahn vorwärts, so würde Durchschneidung (eventuell auch Antitoxineinverleibung) nicht nur die korrespondierenden, sondern sämtliche Zentren freilassen. Aber, kann man anführen, der Nervenweg erklärt es sehr gut, daß bei subkutaner Toxininjektion die Inkubation verlängert ist. Wenn aber die Nervenleitung alles Toxin getreulich ohne Verlust zum Zentralorgan weiter beförderte, so blieben die Differenzen unerklärt, die sich zwischen subkutaner und intracerebraler Injektion in der Menge der zur Erkrankung und Tötung des Tieres erforderlichen Dosen zeigen. Es handelt sich bei den in Betracht kommenden Zahlen nicht um Bruchteile, die durch Verluste auf dem Wege zu erklären wären, sondern um Multipla (ausgenommen bei Meerschweinchen) (cf. oben), und zwar bestehen ganz analoge Verhältnisse bei der Injektion von Alkaloiden. Man hat es bisher vermieden, Toxine und Alkaloide in Parallele zu setzen. Aber die bei intracerebraler Injektion bestehenden Analogieen sind zu bedeutsam, als daß man über sie hinweggehen dürfte.

Beim Kaninchen genügen bei cerebraler Tetanustoxinzuführung weit geringere Dosen als bei subkutaner oder intravenöser Injektion. Bei Meerschweinchen ist dies nicht der Fall. Beim Kaninchen beträgt in diesem Falle die Inkubation 8–12 Stunden, bei Meerschweinchen ist sie etwas länger als bei subkutaner (Roux und Borrell, zitiert nach Blumenthal, p. 12 u. 31).

Bei subduraler Injektion beträgt die Inkubation bei Ziegen 12 bis

16 Stunden gegenüber 3—4 Tagen bei subkutaner Injektion (Blumenthal und Jacob, zitiert nach Blumenthal, Monogr. p. 12).

$\frac{1}{100}$ der Dosis Arsen oder Atropin, die intravenös injiziert keine Erscheinungen macht, bewirkt, intracerebral zugeführt, Vergiftung und Tod (Calmette, Soc. de biol. 1899. p. 202).

Kurz hinweggehen wollen wir über die Frage, ob die klinischen Erscheinungen durch das Toxin an sich hervorgerufen werden, oder nur durch das Toxin, das Fermentwirkungen im Körper ausgesetzt war (cf. Oppenheimer, p. 107/8). Wir wollen nur bemerken, daß wir von der Verbindung des Toxins mit Organen bei aseptischem Vorgehen keine Änderung des klinischen Verlaufes des Tetanus beobachtet haben, so daß die Mitteilungen darüber (Blumenthal) mit Vorsicht aufzunehmen sind, da es sich wahrscheinlich um Zersetzungs Vorgänge in den betreffenden Organen infolge ungenügender Asepsis handelt.

Die Frage der Toxin-Antitoxinverbindung ist von Michaelis¹⁾ ausführlich dargestellt worden, daß es sich erübrigt, die Frage hier noch einmal aufzurollen. Für unsere Zwecke wollen wir hier nur feststellen, daß die Majorität der Ehrlich'schen Ansicht zuneigt, daß die Bindung zwischen Toxin und Antitoxin als eine chemische aufzufassen ist. Die Bindung ist jedoch keine absolut feste und entspricht dem Zusammen-treten zweier chemischer Körper von nicht sehr hoher Affinität.

Es ist am besten, wenn man an dieser Grundlage festhält und alle unnötigen Komplikationen beiseite läßt. Der bekannte Dreyer-Madsen'sche Versuch zeigt, daß Toxin-Antitoxingemische, die so austitriert sind, daß sie für Meerschweinchen nur Toxonwirkung zeigen, auf Kaninchen noch als Toxin wirken. Wechsberg (Zur Lehre der antitoxischen Sera. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. No. 8) nimmt zur Erklärung an, daß in dem Toxin zwei verschiedene Giftkomponenten für Kaninchen und Meerschweinchen vorhanden sind. Die Konsequenz dieser Anschauungen wäre, auch verschiedene Antitoxine im Serum annehmen zu müssen.

Das Tetanusantitoxin.

Das Tetanusantitoxin entsteht als Reaktionsprodukt des Tierkörpers nach der zweckmäßigen Einverleibung von Tetanustoxin.

Das Antitoxin verbindet sich etwas langsamer mit dem Toxin, als dies zwischen Diphtherietoxin und Antitoxin der Fall ist (Ehrlich, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 33/34). Nach Dönitz (Klin. Jahrb. Bd. VII. 1899) soll man daher das Toxin-Antitoxingemisch mindestens $\frac{3}{4}$ Stunde stehen lassen. Der Grad der Absättigung ist von der Konzentration abhängig, derart, daß bei stärkerer Konzentration auch die Bindung schneller und vollkommener ist. Die Bindung ist eine weniger feste als beim Diphtherietoxin. Das Antitoxin neutralisiert jedoch in vitro Tetanustoxin²⁾ derart, daß die Mischung Tieren eingespritzt werden kann, ohne daß tetanische Erscheinungen auftreten. Um schon an Organrezeptoren gebundenes Toxin nachträglich an Antitoxin zu binden, sind sehr große Mengen Antitoxin nötig. Besteht die Bindung des Toxins schon

1) Michaelis, L., Die Bindungsgesetze von Toxin und Antitoxin. Leipzig (Born-träger) 1900.

2) Auch auf die verschiedenen Theorien, Behring-Kitasato, Giftzerstörung (Dtsche med. Wochenschr. 1890. p. 1113), Buchner, Bewahrung der Orgazellen vor dem Gift (Münch. med. Wochenschr. 1893. p. 480) u. A., kann ebenfalls nicht weiter eingegangen werden.

seit längerer Zeit, ist eine Sprengung durch Antitoxin überhaupt nicht mehr möglich (Dönitz, Dtsche med. Wochenschr. 1897. No. 27). Diese Tatsachen geben den Schlüssel für die große Kasuistik über die Anwendung von Tetanusantitoxin als Heilmittel, auf die an dieser Stelle nicht eingegangen werden kann¹⁾.

Die Behringsche Bewertung des Serums geht davon aus, daß ein einfaches Serum 1 g Tier gegen die sichere Dosis letalis schützen soll. 1 ccm eines millionenfachen Serums schützt also 50 000 Mäuse von je 20 g Gewicht.

Nach Meyer und Ransom ist das Antitoxin nicht im stande, in den Achsencylinder einzudringen und zu dem Nervenzentrum zu gelangen. Die Antitoxinbildung soll meist bei Tieren eintreten, die tetanusempfindlich sind, entsprechend der Ehrlichschen Theorie, nach der die Unempfindlichen keine Rezeptoren besitzen. Nach Metschnikoff bildet jedoch das für Tetanus unempfindliche Krokodil Antitoxin. Der Tetanus ruft klinische Erscheinungen allein im Zentralnervensystem hervor, wenn man von der Vaillardschen Angabe der Vergiftung der benachbarten Muskelgruppen bei sehr kleinen (und eventuell sehr großen) Toxindosen bei einzelnen Species absieht²⁾ (zit. nach Oppenheimer, p. 101). Bei keiner bakteriellen Erkrankung (bestätigt von Knorr) steht die Affektion des Zentralnervensystems so im Vordergrund der Erscheinungen wie beim Tetanus, und Ehrlich hat einen Gegensatz zwischen Tetanus und allen anderen infektiösen Krankheiten konstruiert, indem beim Tetanus allein das Zentralnervensystem das Toxin bilden sollte³⁾. Die Bestätigung dieser Theorie durch Wassermann-Takakis schöne Versuche über Gehirnbindung haben wir schon erwähnt.

Eine weitere Bestätigung schien die Ehrlichsche Theorie durch die Kaminerschen Glykogenarbeiten gefunden zu haben (Ver. f. inn. Med. 6. Jan. 1902; Dtsche med. Wochenschr. 1902. No. 12). Kaminer glaubte in dem Auftreten von Glykogen in den Leukocyten ein sicheres Kriterium für Infektion und Toxinvergiftung gefunden zu haben, zugleich ein Zeichen dafür, daß die Leukocyten bei der Antikörperproduktion mitbeteiligt sind. Im Gegensatz zu allen anderen Infektionen hatte Kaminer beim Tetanus das Auftreten von Glykogen in den Leukocyten vermißt; der Tetanus stand so zu allen anderen Infektionskrankheiten nach den Kaminerschen Befunden in demselben Gegensatz, wie ihn Ehrlich nach seinen Anschauungen postuliert hatte. Aus den Kaminerschen Befunden konnte jedoch für die Ehrlichsche Auffassung des Tetanus keine Stütze mehr hergeleitet werden, als ich mit der Ehrlichschen Technik die Kaminerschen Befunde als inkonstant nachwies und zeigte, daß es sich nur um geringe Differenzen der Glykogenlöslichkeit handelte, und daß bei geeigneter Technik, die auf die Löslichkeit Rücksicht nahm, auch im normalen Blute, Milz und Knochenmark Glykogen in den

1) cf. die neueste umfassende Kasuistik von Brandenstein.

2) Und der Zupnikschen (Dtsche med. Wochenschr. 1900 u. 1905), nach welcher gerade mittlere Dosen (Dosis letalis duplex) lokale Starre in den Muskeln auslösen.

3) „Wenn man einem Tiere eine kleine Quantität Tetanustoxin einspritzt, so kann man genau feststellen, daß es bald vom Zentralnervensystem fixiert wird, wahrscheinlich von den motorischen Ganglienzellen. Das Nervensystem zieht mehr als irgend ein anderes Organ das Tetanustoxin an und hält die Toxinmoleküle fest. Es sind die Seitenketten des Protoplasmas, die diese Rolle spielen und die das lebende Protoplasma der verlängerten Giftwirkung unterwerfen.“

Leukocyten vorhanden sei (Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 17—20; Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LI. Heft 5 u. 6).

Die Untersuchungen der letzten Jahrzehnte haben ergeben, daß Antitoxin, nach Ausbruch der klinischen Erscheinungen injiziert, in sehr vielen Fällen keine Heilwirkung ausübt (Dönitz, Blumenthal-Jacob, Berl. klin. Wochenschr. 1898. p. 1079 u. a. m.). Es erscheint die Annahme ziemlich gesichert, daß das (einige Zeit) an Organe gebundene Toxin durch Antitoxin nicht mehr loszulösen ist, also eine Sprengung der Organ-Toxin-Verbindung nicht mehr eintritt. Eine Heilung eines ausgebrochenen Tetanus ist nur möglich, wenn zwischen krankmachender und tödlicher Dosis für die betreffende Species eine Differenz besteht und wenn noch nicht die tödliche Dosis Gift an die Organe fixiert worden und wenn außerdem das Antitoxin im stande ist, das noch kreisende, nicht fixierte Toxin zu binden, was nach Ehrlich dadurch ermöglicht wird, daß die ins Blut abgestoßenen Seitenketten, „das Antitoxin“, größere Affinität zum Toxin haben als die noch an der Zelle haftenden Rezeptoren. Die intradurale und intracerebrale Antitoxininfusion geht von der nicht absolut bewiesenen Annahme aus, daß es möglich sei, durch örtliche Zuführung von Antitoxin an die Stellen der Giftwirkung und Giftbindung durch Antitoxin-Massenwirkung die Verbindung „Organ-Toxin“ zu sprengen.

Besredka hat nun gezeigt, daß es durch indifferente Mittel (5maliges Zentrifugieren mit physiologischer Kochsalzlösung) möglich ist, die neutrale Gehirntoxinverbindung in der Weise zu sprengen, daß die toxische Wirkung wieder hervortritt, und Blumenthal (Arch. f. Physiol. 1904. Heft 1/2. p. 217) hat mit gleicher Technik in den Organen am Tetanus Gestorbener Toxin nachgewiesen. (Dieses Toxin löste etwas modifizierte klinische Erscheinungen aus: Klonische Krämpfe, Paraplegie, Coma, also mehr die Symptome einer Allgemeinvergiftung als typische tetanische Symptome). Daß diese bei Benutzung von Leichenteilen nach unserer Ansicht auf septische Vorgänge zu beziehen sind, hatten wir schon erwähnt. Man fand das Gift bei dieser Technik in den Organen, selbst dann, wenn die Patienten so viel Antitoxin injiziert erhalten hatten, daß ohne diese wiederholte Auswaschung die Organe sogar freies Antitoxin aufwiesen.

In vivo tritt, wie schon erwähnt, eine Dissoziation der Verbindung Organ-Toxin durch Antitoxin für gewöhnlich nicht ein und dementsprechend zieht Blumenthal die ganz logische Schlußfolgerung, daß die Bindung an die Organe der Grund des häufigen Mißlingens der Antitoxinbehandlung sein müsse. Die Immunität des Huhnes erklärt er dadurch, daß die giftbindende Substanz beim Huhn — das Rückenmark — viel langsamer bindet als beim empfänglichen Tiere, so daß viel höher konzentrierte Giftlösungen nötig sind, um eine Vergiftung herbeizuführen. Er stützt diese Beweisführung durch die Versuche von Roux und Borrel, nach denen bei cerebraler Giftzuführung, also wenn an einer Stelle das Gift konzentriert zur Wirkung gelangt, zur Vergiftung viel geringere Dosen Toxin erforderlich sind, als bei subkutaner Zuführung.

Wenn wir im Vorhergehenden vom Antitoxin und von antitoxischen Kräften ganz allgemein gesprochen haben, müssen wir uns jetzt der Bindung des Tetanusgiftes durch Nervensubstanz im speziellen zuwenden. Daß Nervensubstanz Tetanustoxin unwirksam macht, läßt sich in vitro

zeigen. Die Tatsache steht fest. Es erhebt sich nur die Frage, ob dies eine Giftbindung oder eine Giftzerstörung ist. Gegen diese letztere Annahme sprechen schon die erwähnten Besredka-Blumenthalschen Versuche, die zeigen, daß das Gift sich reaktivieren läßt. Nach Wassermann geht der bindende Körper nicht in Lösung und filtriert nicht, während das Toxin filtrierbar ist. Blumenthal und Milchner michten Tetanustoxin mit Gehirnsubstanz. Das Filtrat war ungiftig, also das Gift an die Nervensubstanz gebunden. War jedoch mehr Gift vorhanden, als gebunden werden konnte, so war das Filtrat giftig. Zentrifugieren gab dieselben Resultate. Gekochte Nervensubstanz vermag nicht zu binden, was als Beweis für echte (chemische) Bindung angesehen wird (allerdings eine physikalische Bindung nicht ausschließt¹⁾).

Mit der Bindung des Giftes im lebenden Tiere tritt die Giftwirkung nicht gleich in Erscheinung, beide Vorgänge sind also nicht identisch. Denn es verfließt nach der Bindung des Toxins stets noch einige Zeit bis zum Auftreten der Erkrankung, doch geben uns unsere Untersuchungen Grund, die Inkubation anders zu deuten, wie dies bisher geschah. Es zeigen die Untersuchungen von Morgenroth (Arch. de pharm. dynamie. T. VIII. p. 225), daß das Tetanustoxin in der Kälte gebunden wird (z. B. Eisschranktemperatur), während nur in der Wärme die Giftwirkung auftritt. Nach Wassermann und Takaki (Berl. klin. Wochenschr. 1898. No. 1) bindet Gehirnbrei die 10-fach tödliche Dosis, 1 g Rückenmark nur die 3-fach tödliche Dosis für Mäuse. Sichere quantitative Differenzen in der Bindungsfähigkeit zwischen Gehirn und Rückenmark sind jedoch nicht beobachtet worden. Sie wären auch nur mit größter Kritik zu verwerten, denn nach unseren Versuchen wechselt die Bindungsfähigkeit des Gehirns und Rückenmarks in dem einzelnen Falle sehr stark²⁾. So erscheint mir gewagt, aus der Tatsache, daß Rückenmark eines Tetanischen nur die 4-fach tödliche Tetanusdosis neutralisiert, während normales Rückenmark mindestens die 8-fache tödliche Dosis neutralisiert (Blumenthal, Monogr.), irgend welche Schlüsse zu ziehen, obwohl der Befund sehr zu dem Schlusse verlockt, daß ein Teil der Organrezeptoren mit Tetanustoxin beladen ist und nicht mehr Toxin zu binden vermag.

1) Nach Kempner und Schepilewski (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVII. p. 213) soll Cholestearin und Lecithin ebenso Olivenöl schützende Eigenschaften gegen Botulismustoxin haben (im Gegensatz zum Gehirn keine präventiven, die ich jedoch auch beim Gehirn gegenüber Tetanus nie beobachtet habe, konform mit Metschnikoff, Marie und Asakawa).

Erhitzung alteriert weniger die giftaufhebende Wirkung des Lecithins und Cholestearins, als die des Gehirns. Metschnikoff zieht hieraus den Schluß, daß es hauptsächlich die Fette sind, die das Gift neutralisieren und dem Organismus gestatten, sich dem krankmachenden Einfluß zu entziehen. Nach Studenski (Annalen. 1899. p. 126) fixiert das Karmin das Tetanustoxin, doch bedürfen diese Feststellungen noch sehr der Nachprüfung. Es erlauben speziell die mit Fetten gemachten Erfahrungen nicht den kühnen, von Metschnikoff gezogenen Schluß, daß z. B. das Gehirn des Frosches darum kein Tetanustoxin bindet, weil es fettarm ist. Ich hatte von Anfang an Zweifel, ob tatsächlich die giftbindende Kraft des Gehirns an die Fette geknüpft ist. Neuere Versuche von Marie und Tiffeneau bestätigen diese Zweifel (Soc. de biol. 1907. No. 23), sie werden bei unseren diesbezüglichen Versuchen näher angeführt. Es ist dies bei der übertriebenen Bedeutung, die gegenwärtig den Lipoiden beigemessen wird, besonders bemerkenswert.

2) Erwähnt sei, daß nach Schulze (zitiert nach Blumenthals Monogr.) das Gehirn nicht nur eine antitoxisch wirkende Substanz enthält, sondern außerdem noch eine Substanz, welche die Giftwirkung verstärkt. Nach Metschnikoff vermag die Nervensubstanz der Frösche in vitro kein Toxin zu binden.

Der Kliniker sieht gewöhnlich den Tetanus als eine Rückenmarkserkrankung an, und selbst die Tatsache, daß Gehirn ebenso, meist sogar besser Tetanustoxin bindet, als Rückenmark, hat die Frage nicht zur neuen Diskussion gestellt.

Brunner zitiert einen Versuch, nach dem das Großhirn keine Beziehungen zur Tetanuskontraktur haben kann (Dtsche med. Wochenschr. 1894. p. 100), da entgroßhirnte Tiere ebenfalls Tetanus bekommen. Die verdienstvolle, bisher viel zu wenig gewürdigte Arbeit führt aus, daß das Tetanustoxin nicht auf periphere Nerven und Muskeln, sondern auf das Mark wirkt. Das Zentrum der Giftwirkung müsse immer das Mark sein, da eine Zerstörung des Markes eine Kontraktur in den der Zerstörung entsprechenden Muskelgruppen unmöglich macht (Vaillard, Vincent, Courmont und Doyen, Gumprecht, zitiert nach Brunner).

Die von mir gemachte Feststellung, daß sämtliche Eiweißgifte und Bakterienendotoxine durch Wirkung aufs Gehirn den Tod herbeiführen, veranlaßte mich, die Tetanustoxinwirkung in gleicher Weise zu analysieren. Wenn ich auch nicht glaube, daß sich der Tetanus schematisch als eine reine Gehirn- oder Rückenmarksaaffektion wird klassifizieren lassen, da naturgemäß Gehirn und Rückenmark Toxin verankert haben wird, so glaube ich doch, den Beweis führen zu können, daß die vom Gehirn ausgehenden klinischen Erscheinungen zum mindesten an dem entstehenden Krankheitsbild einen sehr beträchtlichen Anteil haben.

Die Rückenmarksaaffektionen pflegen gewöhnlich beiderseitig zu sein, während sehr häufig die Hirnaaffektionen nur eine Seite betreffen, wenn man von der Brown-Séquardschen Halbseitenstrangläsion absieht. Der Tetanus beginnt nun zwar in einer Extremität, was auf cerebrale Auslösung hindeuten würde; es wird allerdings nach einiger Zeit die andere Extremität ebenfalls befallen, jedoch läßt sich dies zwanglos mit der cerebralen Auslösung vereinigen, da das Gift auf den zwischen den gleichsinnigen Zentren vorhandenen Bahnen fortschreitet. Der beim Menschen fast stets die Szene einleitende Trismus — der bei Tieren merkwürdigerweise nicht zu beobachten ist — läßt sich überhaupt nur cerebral erklären, da er von Hirnnerven innervierte Gebiete umfaßt, ebenso die gesteigerte Reflexerregbarkeit, die auf eine Ausschaltung der Großhirnfunktion hinweist, die es den eventuell durch das Toxin ebenfalls gereizten motorischen Rückenmarksganglien ermöglicht, ohne jede cerebrale Hemmung den motorischen Impulsen zu folgen. Die Form, in der der Tetanus oft bei wenig empfindlichen Tieren auftritt, die Reflexübererregbarkeit ohne Kontrakturen, weist ebenfalls auf Erkrankung resp. Ausschaltung des Gehirns hin. Bei Kaninchen und Meerschweinchen kann man diese Form experimentell durch intravenöse Giftinjektion erzeugen.

Nach Ehrlich wird beim Tetanustoxin das injizierte Gift bald vom Zentralnervensystem fixiert, nach seiner Ansicht von den motorischen Vorderhornzellen des Rückenmarks resp. den motorischen Kernen der Medulla oblongata. Roux und Borrel (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898. No. 4) haben bei cerebraler Giftzuführung beim Meerschweinchen und Kaninchen cerebrale Symptome festgestellt (Hasensprünge, epileptische Krisen, Polyurie und motorische Störungen bei Fehlen von Kontrakturen).

Der Versuch, durch Entfernung des Großhirns zu zeigen, daß das Rückenmark der Ort der Tetanuserkrankung ist, ist wenig beweiskräftig, da ein entgroßhirnter Hund durch Erhöhung der Reflexerregbarkeit für

Tetanus geradezu prädisponiert ist. Ebenso wenig beweisend ist das Ausbleiben des Tetanus nach Rückenmarkszerstörung, da hier eine Einwirkung des Großhirns auf die Muskeln ausgeschaltet wird.

Das Ausbleiben des Tetanus nach Rückenmarkausschaltung (Durchschneidung?) würde gerade umgekehrt eher dafür sprechen, daß der Tetanus eine cerebrale Affektion ist. Ein Zweifel an der Mitbeteiligung des Gehirns an dem Zustandekommen des Tetanus kann überhaupt nach den oben mitgeteilten Versuchen von Roux und Borrel nicht mehr bestehen, die durch intracerebrale Injektion nicht nur bei empfänglichen, sondern auch bei „immun“ Tieren Tetanus hervorgerufen haben, und Meyer und Ransom (Arch. f. exper. Pharm. u. Pathol. Bd. XLIX) injizierten Bruchteile der tödlichen Dosis in die hinteren Wurzeln der Lendennerven und erhielten einen Tetanus dolorosus, der nur Hirnreflexe, keine Rückenmarksreflexe aufwies. Es wäre wünschenswert, daß diese Kenntnis in klinischen Kreisen weitere Verbreitung findet. Zwar konzidiert schon ein Kliniker, Blumenthal: „Es kann nicht mehr bestritten werden, daß das Gift auch Gehirnsymptome hervorrufen kann, sofern es Gelegenheit hat, auf die Hirnrinde einzuwirken“. Wir sind jedoch der Ansicht, daß in **jedem** Falle das Gehirn in sehr wesentlicher Weise beteiligt sei und kommen auf diesen Punkt in unseren weiteren Ausführungen noch einmal zurück.

Die Frage, ob die giftbindende Substanz im Nervensystem Antitoxin ist, hat vielfache Diskussionen hervorgerufen, zum Teil wohl, weil Wassermann diese bindende Substanz als „präformiertes Antitoxin“ bezeichnete und dies so aufgefaßt wurde, als ob intra vitam diese Stoffe wie Antitoxine wirkten. Der Tetanus würde dann bei tetanusempfänglichen Tieren dadurch zu stande kommen, daß das präformierte Antitoxin nicht ausgereicht hat, um all das Toxin zu binden, welches das Tier aufgenommen hat. Diese Anschauung ist unmöglich richtig, und zwar aus folgenden Gründen:

1) Weil am Tetanus gestorbene Meerschweinchen noch reichlich bindende Substanz in ihrem Nervensystem aufwiesen, so viel, daß andere Meerschweinchen noch gegen eine vielfach tödliche Dosis geschützt werden könnten (Metschnikoff, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898. No. 2; Blumenthal, Dtsche med. Wochenschr. 1898. No. 12)¹⁾.

2) Weil immunisierte Tiere, also solche, die einen Rezeptorenüberschuß im Nervensystem aufweisen mußten, gegen cerebrale Giftzufuhr dieselbe Empfindlichkeit besitzen wie nicht vorbehandelte (Marie, Soc. de biol. 1907. No. 22).

Es kann darum meines Erachtens nicht in Betracht kommen, die bindenden Gehirngruppen mit Antitoxin zu identifizieren. Ich darf jedoch nicht verschweigen, daß andere Autoren hierüber anders denken. Wassermann z. B. geht in der Identifizierung so weit, daß er angibt, daß Gehirnbrei 24 Stunden vor der subkutanen Injektion von Tetanustoxin peritoneal injiziert, die Mäuse gegen Einverleibung von Tetanus-

1) Die Autoren fanden weiter, daß beim Kaninchen bei cerebraler Giftzufuhr geringere Dosen Tetanustoxin zur Vergiftung genügen, während das beim Meerschweinchen nicht der Fall ist. Den Befund können wir bestätigen, auf seine von der unsrigen abweichende Deutung kommen wir noch später zurück (Soc. de biol. 1907. No. 22). Blumenthal, Metschnikoff und Asakawa fanden, daß die immunen Hühner wenig Tetanus bindende Rezeptoren im Gehirn besitzen im Vergleich zu für Tetanus empfänglichen Tieren.

toxin schützte, ja daß sogar noch Zufuhr von Gehirnbrei **nach** der Toxininjektion die Tiere am Leben erhielt. Diese auffälligen Befunde haben von Marie (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898. No. 2) eine Bestätigung wenigstens insoweit erfahren, als gleichzeitige Injektion von Toxin und Gehirnbrei an verschiedenen Stellen Schutz verlieh. Dagegen konnten Metschnikoff (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XII. 1898. No. 2. p. 81 u. 263) und Asakawa (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. 1898. p. 166 u. 234) sich von der Richtigkeit dieser Angaben nicht überzeugen. Wassermann suchte diese Differenz der Befunde in einer persönlichen Mitteilung an Weigert dadurch zu erklären, daß die Lösung und Infreisetzung der an den Nervenzellen sitzenden Rezeptoren nur in etwa 40 Proz. der Fälle erfolgte (Weigert, Antitoxinimmunität in Lubarsch-Ostertags Ergebnissen. Jahrg. IV. 1897. Wiesbaden 1899).

Nach unseren Untersuchungen muß ich mich Metschnikoff und Asakawa anschließen und betonen, daß ich eine Giftbindung **nur** bei gleichzeitiger Injektion von Toxin und Gehirnbrei an derselben Stelle gesehen habe, daß mir also eine Lösung der Rezeptoren nicht begegnet ist. Aus diesem Grunde halte ich auch die von Klinikern, speziell von Praktikern bei Tetanus empfohlene subkutane Injektion von Gehirnbrei zur Heilung ausgebrochenen Tetanus für zwecklos; in der letzten Zeit haben übrigens die Mitteilungen über Erfolge dieser Therapie aufgehört (cf. Krokiewicz, Drsodowski s. bei Ignatowski, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXV).

Es sei hier erwähnt, daß nach Untersuchungen von Rosenbaum und mir auch bei der Autolyse von Gehirnbrei keine Abstoßung von Rezeptoren stattfindet, sondern daß bei der Autolyse eine Zerstörung der bindenden Substanz erfolgt.

Ueber die Bindungskraft anderer Organe gegenüber Tetanustoxin gibt es in der Literatur kaum Angaben, eine Folge der Ehrlichschen Seitenkettentheorie, die gegenüber Tetanustoxin nur Rezeptoren im Zentralnervensystem postulierte. In den Organen empfindlicher Tiere ist nach Toxininjektion kein Gift anzutreffen, nur im Blute und Lymphe meist etwa nur 1 Stunde nach der Injektion (in der Lymphe weniger als im Blute) (Ransom, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXIV. 1900. p. 349; Buschke und Oergel, Dtsche med Wochenschr. 1893. No. 7; Courmont und Doyon, Arch. de phys. 1893; Sem. méd. 1893; Asakawa, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. p. 166 und 284; Knorr, Habilitationsschr. Marburg. 1895). Es fehlt sonst in allen Organen und Sekreten (Marie, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XI. 1897. p. 591); nur Bruschettini (zit. nach Brunner, Beitr. z. klin. Chir. No. 9—12) will es in den Nieren selbst aufgefunden haben¹⁾.

Die zu supponierende Bindung des Toxins wird allein auf das Nervensystem bezogen, welches das Gift aus dem ganzen Körper an sich zieht. Nur beim Kaninchen wird das Gift „unter Umständen“ anderweitig gebunden (Dönitz) und die Folge dieser anderweitigen Bindung soll sein, daß das Tier am Tetanus sine tetano stirbt! Um in der Literatur weitere Angaben über Toxinbindung seitens der Organe

1) Einzelne Untersucher haben Tetanustoxin im Harn gefunden, andere wieder nicht. Kartulis (Inaug.-Diss. Berlin. 1892) nicht. Brunner bei Tieren nicht. Behring (Blutserumtherapie. p. 54. Leipzig 1892) nicht bei Menschen, Vulpinus (Dtsche med. Wochenschr. 1893. p. 992) hat wieder positive Resultate beim Menschen.

zu treffen, muß man intensiv suchen. Kendratjeff (Arch. f. exper. Pathol. 1896. p. 191) fand, daß Milzextrakt einen antitoxischen Einfluß auf Tetanus ausübt. Calmette (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1896. p. 702) fand einen antitoxischen Einfluß frischer Bouillon auf Abrin. Zu erwähnen in diesem Zusammenhang ist ein Befund von Rehns (Soc. de biol. 1904. No. 31), dem es gelang, Diphtherietoxin an Bindegewebe zu fixieren, also eine Bindung herbeizuführen. Das Tetanusgift aber setzt auch er zu den anderen Toxinen in einen direkten Gegensatz. Bei diesem soll sich die Affinität nur auf ein Gewebe beziehen, eine solche Bindung an das Bindegewebe also unmöglich sein. Nur Knorr hat angenommen, daß die Organe das Gift binden, ohne den absoluten Beweis dafür zu erbringen (Habilitationsschr. Marburg. 1895).

Phagocytentheorie und Tetanustoxin.

Während das Verhalten der Organe im allgemeinen zum Tetanustoxin so gut wie unerforscht geblieben ist, hat sich das Interesse auf die Beziehungen der Leukocyten zum Tetanustoxin konzentriert: Eine Folge der Metschnikoffschen Phagocytentheorie, die ursprünglich nur einen Kampf der Leukocyten gegen belebte Infektionserreger annahm, bald aber eine Analogisierung auch der gegen Toxine wirksamen Kräfte mit denen gegen die lebenden Infektionserreger in Aktion tretenden herbeizuführen suchte! In diesem Punkte im striktesten Gegensatz zu den Ehrlichschen Anschauungen gab Metschnikoff auch gegenüber dem Tetanustoxin den Leukocyten die Rolle, den Kampf im Organismus zu entscheiden. Metschnikoff führt speziell für den Tetanus an:

Zunächst soll in den Fällen, in denen kurze Zeit nach der Toxininjektion der Tod eintritt, starke Hyperleukocytose bestehen; bleibt dagegen das Tier länger als 24 Stunden am Leben, so entsteht eine sehr ausgesprochene Hyperleukocytose (bei Meerschweinchen tritt diese Hyperleukocytose bis zum 100-fachen Multiplum der Dosis letalis ein, Chalenay, Les réactions leucocytaires vis-à-vis de certains toxines. Paris 1892).

Lebende Tetanusbacillen oder -sporen ohne freies Toxin injiziert (Vincent, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1891. p. 1), werden selbst von empfindlichen Tieren gut vertragen. Es entsteht eine Leukocytose. Die Leukocyten sollen dann das von den Tetanusbacillen gebildete Gift neutralisieren. Diese Giftneutralisierung durch Leukocyten von Tieren mit höchster Giftempfindlichkeit ist ein schwacher Punkt in der Metschnikoffschen Beweisführung, die er durch andere Analogieversuche zu stützen suchte.

Calmette (Soc. de biol. 1899. p. 202) injizierte Kaninchen intravenös 0,2 g Atropin. Brachte er Kaninchen das Blutplasma und die Leukocyten dieses Tieres bei, so löste das Plasma nur geringe, die Leukocyten starke Giftwirkung aus, letztere hatten also das Gift an sich gezogen.

Lombard (Contribution à l'étude physiol. du leukoc. Paris 1901. p. 39) machte dieselben Versuche, jedoch mit Katzen, die gegen Atropin sehr empfindlich sein sollen.

Versuche mit Arsen hat Besredka angestellt (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. p. 49 u. 209). Bei Anwendung löslichen Arsens zeigte sich bei tödlichen Dosen Hypoleukocytose, bei untertödlichen Gaben Hyperleukocytose. Wurde bei giftgewöhnten Kaninchen eine sonst tödliche Dosis injiziert, so zeigten nach der Entblutung bei der chemischen Analyse Serum und Plasma kein Arsen, sondern **nur** die Leukocyten.

Bei Anwendung von unlöslichem Arsen (Arsentrisulfat) bleiben nur die Tiere am Leben, bei welchen die Makrophagen die Phagocytose ausüben.

Auf Grund dieser Feststellungen lehnt Metschnikoff die Annahme, daß Antitoxine im Nervensystem vorgebildet seien, ab. Der Giftschutz durch Nervensubstanz beruht nach seiner Anschauung nur in der Erzeugung einer Leukocytose.

Diese Bindung zwischen Toxin und Gehirnsubstanz sei sehr unbeständig. Die injizierte Mischung bewirkt eine Anhäufung von Leukocyten, welche die Gehirnteilchen und Karminpulver ergreifen, und mit diesen Partikelchen auch das Toxin. Die erste Wirkung dieser Substanzen besteht also darin, den schnellen Uebergang des Toxins in die Säfte zu verhindern. Der zweite Akt bestände in der Absorption des fixierten Giftes durch die Leukocyten. Es wären dies nach Metschnikoffs Auffassung demnach Zellen, welche Rezeptoren für die haptophore Gruppe des Toxins besitzen, gegen die toxophore jedoch unempfindlich sind.

Die Tätigkeit der Phagocyten gegen das Tetanustoxin erscheint mir nicht hinreichend bewiesen zu sein. Roux und Vaillard (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1893. p. 63) und Salomonsen und Madsen (Kgl. Danske Videnskabernes Selskabs Forhandlinger. 1898) haben z. B. festgestellt, daß gerade die leukocytenreichen Organe wie Milz und Knochenmark unter allen Organen am schwächsten antitoxisch wirkten. Diese Tatsache hat Metschnikoff bestätigt.

Es gibt dann auch wieder Untersuchungen, die zeigen, daß den Leukocyten bei der Tetanusvergiftung keine irgendwie hervorragende Rolle zukommt.

So haben Courmont und Doyon wieder gezeigt, daß Froschhirn trotz Erzeugung einer Leukocytose **keinen** Schutz abgibt. Wassermann behauptet sogar, daß Gehirnbrei noch 24 Stunden nach der Injektion, also zu einer Zeit, wo die Leukocytose bereits abgelaufen ist, gegen Tetanusinfektion Schutz verleiht. Metschnikoff weist wieder zur Stütze der Phagocytentheorie darauf hin (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897. p. 808), daß bei Hühnern das Tetanustoxin von den Leukocyten absorbiert wird. Daß er in den Leukocyten das Gift nachweisen konnte, und zwar um so mehr, je zahlreicher die Leukocyten waren, beweist aber gerade, daß die Leukocyten das Gift nicht unschädlich gemacht hatten.

Die Metschnikoffsche Theorie kann es absolut nicht erklären, warum zahllose andere Organe außer der Nervensubstanz — obwohl sie ebenfalls subkutan injiziert, die Entstehung einer Leukocytose bewirken — gegen Tetanustoxineinverleibung nicht schützen, und unser Erstaunen darüber wächst noch, wenn wir uns aus unseren Versuchen die Tatsache vergegenwärtigen, daß diese Organe ebenfalls Gift an sich ziehen und es relativ langsam von sich lassen, den Leukocyten also reichlich Zeit zu einem Eingreifen geben. Metschnikoff analogisiert, wie erwähnt, vollkommen die Bakterienimmunität mit der antitoxischen und diese wiederum mit der Unempfindlichkeit gegen Alkaloide (wie Atropin und Gifte wie Arsen) (Monogr. p. 418), was theoretische Bedenken gegen sich hat, da der Mechanismus der Giftunempfindlichkeit ein von der antitoxischen Immunität abweichender ist. Selbst wenn man aber diese letztere Analogisierung mitmachen wollte, beweist gerade der von Metschnikoff angeführte Resistenzversuch das Umgekehrte, als was Metschnikoff damit beweisen will:

Nach Injektion von Karmin ins Peritoneum ist die Resistenz gegenüber (unlöslichem) Arsen vermindert, da die Leukocyten, mit Karmin vollgestopft, nicht im stande sind, noch Arsen aufzunehmen! Dieser Versuch würde aber nur zeigen, daß im Resistenzversuch ein entgegengesetztes Verhalten bei bakterieller Infektion und bei Giftzufuhr besteht. Die durch peritoneale Injektion körperfremder Substanz erzeugte Entzündung läßt den Körper mit der 4—8-fachen Dosis letalis lebender Bakterien fertig werden, obwohl, wie man nachweisen kann, die Leukocyten über und über mit Zelltrümmern „vollgestopft“ sind. Diese phagocytäre Belastung hindert sie also nicht im mindesten, noch dazu Bakterien in sich aufzunehmen. Es fehlen von seiten Metschnikoffs weitere Versuche, ob bei Resistenzversuchen gegenüber Toxinen eine erhöhte Empfindlichkeit konstant besteht, nur dann wäre der Versuch der Identifizierung der Alkaloid- und Toxinimmunität überhaupt zu diskutieren.

Die ganzen Versuche der Metschnikoffschen Schule beweisen also nicht, daß den Leukocyten gegenüber Tetanustoxin antitoxische Wirkung oder nur Antitoxinbildung zukommt.

Die Versuche mit Atropin (deren Analogisierung aus den ausgeführten Gründen bedenklich ist) zeigen nur, daß die Leukocyten Atropin an sich nehmen, sie sprechen für keine Giftneutralisation, sondern sie demonstrieren gerade, daß die Leukocyten nicht im stande sind, das aufgenommene Atropin festzuhalten oder zu neutralisieren, da gerade die mit Leukocyten injizierten Tiere an Atropinvergiftung erkranken. Das Verhalten der anderen Organe gegen Atropin ist ungeprüft geblieben.

Im übrigen zeigen gerade die Metschnikoffschen Versuche selbst, daß speziell Meerschweinchenleukocyten nicht im stande sind, Tetanustoxin zu entgiften. Die Leukocytose, die nach Injektion der 1—100-fachen Dosis letalis vom Tetanusgift entsteht, ist ohne Heilwirkung und Metschnikoff analogisiert diese Verhältnisse mit der Milzbrandinfektion des Meerschweinchens, bei welcher auch eine Leukocytose entsteht, die Leukocyten aber nicht im stande sind, die Bakterien zu ergreifen.

Man sieht aus diesen Fällen das Unzutreffende des Metschnikoffschen Schemas, nach dem in den Fällen, in denen der Organismus der Infektion nicht gewachsen ist, infolge der Giftstoffe der Bakterien eine negative Chemotaxis entsteht, an welcher das Tier zu Grunde geht. Teilt er uns doch selbst die Fälle mit, in denen die Tiere trotz der ausgesprochensten positiven Leukocytose zu Grunde gehen.

Für den Fall, daß man toxinfreie Tetanusbacillen injiziert, nimmt Metschnikoff eine antitoxische Wirkung der Leukocyten an. Da aber schon die geringste Menge mitinjizierten Giftes die Tätigkeit der Leukocyten inhibiert, erscheint doch der Schluß viel wahrscheinlicher, daß die Leukocyten nur vollkommen toxinfreie Bakterien aufnehmen und diese phagocytierten Bakterien oder Sporen dann an der Giftproduktion zu verhindern vermögen. Das Oxydationsvermögen der Leukocyten, auf deren Bedeutung hinzuweisen ich wiederholt Gelegenheit genommen habe, läßt es sehr verständlich erscheinen, daß die von den Leukocyten phagocytierten Tetanusbacillen in den Leukocyten kein neues Toxin zu bilden vermögen (cf. Berl. klin. Wochenschr.).

Die Frage nach der Antitoxinbildung im Tierkörper ist eine der ungeklärtesten der gesamten experimentellen Pathologie; bei ihrer Beantwortung müßte man die gesamten Streitfragen der Phagocytentheorie

aufrollen. Als feststehend gelten nur nach den Versuchen von Pfeiffer und Wassermann als Produktionsstellen der Typhus- und Cholera-antikörper die hämatopoetischen Organe.

Als leitendes Axiom dieser Untersuchungen über den Ort der Antitoxinbildung gilt der Satz der Ehrlichschen Seitenkettentheorie: Antikörper werden nur von den Organen gebildet, welche Rezeptoren besitzen. Da die abgestoßenen Rezeptoren nach der Ehrlichschen Theorie die Antitoxine darstellten, war gegen diesen Satz nichts einzuwenden, er bildete vielmehr einen der Hauptpfeiler der Seitenkettentheorie.

Sie fand noch eine weitere Stütze, als man fand, daß man Toxine in eine ungiftige Modifikation (Toxoide) überführen konnte, welche ebenfalls die Bildung von Antitoxinen auslöste. Ehrlich definierte die Toxoide in der Weise, daß bei ihnen die toxophore Gruppe zerstört sei, während die haptophore erhalten ist, welche die Abstoßung von Zellrezeptoren i. e. Antitoxine bewirkte. Eine gewisse Schwierigkeit bot nur die Erklärung der von Bruck u. A. gefundenen Tatsache, daß völlig ungiftige Toxoide keine Antitoxinbildung auslösten, daß hierzu vielmehr eine gewisse Giftwirkung unerläßlich war (Wassermann, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXV).

Die Antitoxinbildung erfolgt also nach Ehrlichs Annahme von dem Organ, an dem das Gift Rezeptoren für seine haptophore Gruppe vorfindet, das also auch bei der Giftbindung durch die toxophore Gruppe geschädigt wird. Diese Schädigung soll bedingt sein erstens durch die Besetzung einer Anzahl von Rezeptoren, die sonst für andere Zwecke zur Verfügung stehen, zweitens dadurch, daß infolge der Bindung die toxophore Gruppe in die Nähe des Hauptkerns der betreffenden Zelle gebracht sei.

„Beim Tetanus bindet sich das Toxin an das Gehirn und das Gehirn ist der Ort der Antitoxinproduktion.“ In diese kurze Fassung lassen sich die wiederholt geäußerten Anschauungen von Ehrlich fassen.

Tiere, die gegen Tetanus refraktär sind, d. h. die natürlich immunen Tiere, müßten nach dieser Anschauung keine Rezeptoren besitzen. Wir kommen auf diese Verhältnisse bei der Besprechung der natürlichen Immunität noch zurück.

Dementsprechend dürften sie kein Antitoxin bilden; die einzelnen Tiere folgen hier jedoch keiner Regel, sie verhalten sich in dieser Beziehung überaus verschieden.

Alle Säugetiere sind gegen Tetanus mehr oder weniger empfänglich, bei ihnen macht daher eine Erklärung der Antitoxinwirkung im Ehrlichschen Sinne keine prinzipielle Schwierigkeit.

Amphibien und Reptilien sind sämtlich gegenüber dem Tetanustoxin in hohem Grade refraktär. In der Fähigkeit der Antitoxinbildung variieren die einzelnen Species außerordentlich.

Spinne (Metschnikoff, *Mygale* vom Kongo) von 7 g erhält Tetanustoxin (1500 g Maus), 2 Monate bei 36° gehalten: Gift verschwunden, keine Antitoxinbildung.

Skorpione (Metschnikoff) vertragen, bei 36° gehalten, noch größere Giftdosen. Gift bleibt noch nach 1 Monat in der Leber nachweisbar, aus dem Blute verschwindet es bald, keine Antitoxinbildung.

Insekten. Metschnikoff benutzte *Oryctes*, da er Temperatur von 30° verträgt. Toxin bleibt monatelang im Blute, keine Antitoxinbildung.

Grillen wie *Oryctes*.

Amphibien (Metschnikoff). Axolotl empfänglich für Tetanus.

Rana esculenta (Metschnikoff) beginnt bei 20—25° empfänglich zu werden. Nach Marie (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XI) rief Froschserum von infizierten Fröschen noch nach 2 Monaten Tetanus hervor. Er hat Frösche zwischen 12 und 15° tetanisch machen können. Inkubation dauerte 25 Tage. Nach Metschnikoff soll der Frosch in seinem Nervensystem keine tetanusbindenden Rezeptoren aufweisen (trotz seiner Empfänglichkeit für Tetanus!). Triton: Unempfindlich. Zit. nach Blumenthal (Monogr.). Er soll auch kein Antitoxin bilden!

Reptilien (Marie) vertragen bei jeder Temperatur ungeheure Mengen Toxin und entledigen sich langsam desselben.

Eidechsen und Schildkröten (Marie) verhalten sich ebenso; Blut noch nach 4 Monaten für Mäuse toxisch.

Schlangen unempfindlich (Lingelsheim).

Kaimans stark refraktär in Wärme und Kälte. Toxin verschwindet rasch aus dem Blute, bei niederen Temperaturen bilden sie kein, bei 32—37° sehr viel Antitoxin (junge Kaimans wenig, alte viel). Blut war oft schon 24 Stunden nach der Injektion antitoxisch (vor der Injektion kein Antitoxin im Blute). Er bildet nach Metschnikoff schon 24 Stunden nach der Toxininjektion Antitoxin, obwohl es keine Reaktion, nicht einmal Temperatursteigerung zeigt. (cf. Metschnikoff, Phagocyten-theorie. p. 42.)

Vögel. Huhn sehr hoher Grad von natürlicher Immunität. Durch Kälte geschädigte Hühner oder bei Injektionen ins Gehirn (Roux-Borrel, Behring, Allg. Ther. d. Infektionskrankh.) können sie schon durch 1 mg tetanisch werden.

Ich möchte auf diese letzte Feststellung großes Gewicht legen, da gegenüber beiden Methoden die Erklärung versagt, daß das Gift dadurch zur Wirkung komme, daß es auf das bindungsträge Gehirn in starker Konzentration einwirke. Bei der Schädigung durch Kälte braucht kein Wort der Erläuterung zugefügt zu werden. Injektion von $\frac{1}{2}$ g Tetanustoxin bei einem Huhn von 2 Pfund führt nicht zum Tetanus. Rechnet man $\frac{1}{13}$ des Körpergewichts an Blut, so hat das Huhn eine Blutmenge von $\frac{2}{13}$ Pfund oder $\frac{1}{13}$ kg = 76,9 g, das $\frac{1}{2}$ g Toxin kreist also in einer Konzentration von 1:153,8 oder wenn man die Lymphe mit in Betracht zieht, von ca. 1:200; d. h. jedenfalls in einer stärkeren Konzentration als 1:1000, die cerebral Tetanus auslöst. Es müssen also beim Ausbleiben des Tetanus andere Faktoren mitwirken, als die Konzentration. Das Blut des Huhnes enthält vor der Injektion kein Antitoxin, nach 1—2maliger Tetanusinjektion bildet sich meist Antitoxin (Vaillard, Soc. de biol. 1891. p. 462; Ann. de l'Inst. Pasteur. No. 6. p. 224 und 676). Sogar das Hühnerei soll antitoxische Eigenschaften entfalten, wenn das Huhn mit Toxin behandelt ist (Klemp., Arch. f. exp. Path. Bd. XXXI. 1903. p. 371).

Papagei wahrscheinlich völlig unempfindlich.

Meervögel.

Sperlinge relativ empfänglich (Forni und Pernossi, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVI; Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XV. p. 303).

Fische (Marie, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVIII) hat er zwischen 13—18 g tetanisiert.

Wir sehen in der Immunität und der Antitoxinbildung bei den einzelnen Tierespecies tiefgreifende Unterschiede, ohne daß es möglich wäre, nach den bisher vorliegenden Tatsachen eine Erklärung zu geben. Nur so viel kann man sagen, daß ein Versuch, die Empfänglichkeit oder Unempfänglichkeit auf im Serum kreisende Antitoxine zu beziehen, scheitern muß, weil die überwiegende Mehrzahl der natürlich immunen Tiere im Serum kein Antitoxin aufweist und es zum Teil auch nach Toxineinverleibung nicht bildet.

Andere einheitliche Ursachen für die Empfindlichkeit sind ebenfalls schwer zu finden. Man könnte vielleicht an die niedere Körpertemperatur bei Amphibien, Reptilien denken, da man annimmt, daß der Tetanus erst von einer bestimmten Temperatur an zum Ausbruch kommt, oder könnte mit Remlinger (Soc. de biol. 1904. No. 36) vermuten, daß wie die Schildkröte gegen Wutgift, so auch die genannten Tiere gegen Tetanus unempfindlich sind, weil ihre Nerven resp. Gehirnmasse außerordentlich gering ist, aber gegen beide Annahmen spricht die Immunität der Vögel, die speziell beim Huhn studiert ist.

Ebenso ungeklärt ist das Wesen der Ueberempfindlichkeit.

Bei dem Immunisieren von Pferden und Ziegen gegen Tetanus haben Behring (Gesammelte Abhandl. Leipzig 1895) und Brieger (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIX. 1895. p. 101) die auffallende Tatsache beobachtet, daß einzelne dieser Tiere, obwohl sie in ihrem Blute eine reichliche Menge Antitoxin besaßen, so viel, daß sie andere nicht immune Pferde und Ziegen gegen sicher tödliche Giftdosen schützen konnten, nicht nur nicht gegen gewöhnliche Tetanusgiftdosen geschützt waren, sondern sogar auf so kleine Giftdosen mit tödlichem Tetanus reagierten, wie sie für nicht behandelte Pferde und Ziegen in keiner Weise krankmachend waren (Ueberempfindlichkeit).

Behring (Theorie der Ueberempfindlichkeit. Dtsche med. Wochenschrift 1898. p. 65) nimmt an, daß hypersensibele Tiere ihre Rezeptoren nicht mehr abstoßen und daß hierdurch die Organe überempfindlich werden. Wir kommen später auf Grund unserer Versuche auf diese Theorie der Ueberempfindlichkeit zurück und können zeigen, daß sie sicher unrichtig ist; aber schon auf Grund kritischen Studiums der Literatur kann man das Unbefriedigende dieser Theorie erkennen. Es ist also als erwiesen anzusehen, daß die überempfindlichen Tiere kolossale Mengen Antitoxins im Serum enthalten. In einem von Behring angeführten Beispiel widerstand ein passiv immunisiertes Tier der Giftdosis, der ein aktiv immunes infolge Ueberempfindlichkeit trotz eines 1500-fach größeren Antitoxingehaltes erlag. Die Hauptfrage, wie das Toxin trotz des freien Antitoxins denn an die Gewebsrezeptoren gelangt, wird in der Behring'schen Theorie überhaupt nicht angeschnitten.

Metschnikoff scheint vieles für die Behring'sche Theorie zu sprechen, indem im Tierkörper bei dem Immunisierungsprozesse sehr verschiedene Prozesse nebeneinander herlaufen. Die Zellreaktion bedingt neben der Antitoxinproduktion eine gewisse Hypersensibilität gewisser Elemente. Doch scheinen ihm die großen Differenzen zwischen passiv und aktiv immunisierten Tieren nicht allein durch die Hypersensibilität erklärt zu werden.

Noch verwickelter werden die Erscheinungen der Ueberempfindlichkeit, wenn man noch einige andere Tatsachen mit in Betracht zieht.

Man kann nach Knorr (Experimentelle Untersuchungen über die

Grenzen etc. p. 18 und 19) beim Meerschweinchen eine Ueberempfindlichkeit erzeugen, wenn man täglich $\frac{1}{10}$ der Dosis letalis minima injiziert. Das Tier stirbt bevor $\frac{1}{1}$ der Dosis letalis erreicht ist, während beim Kaninchen das gleiche Vorgehen Immunität erzeugt. Aus diesem Grunde ist es so schwierig, Meerschweinchen mit unverändertem Toxin überhaupt zu immunisieren. Konnten doch Behring und Kitashima (Berl. klin. Wochenschr. 1901. p. 57) Meerschweinchen sogar mit $\frac{1}{400}$ der Dosis letalis töten. Es gelang ihnen nicht, Meerschweinchen mit unverändertem Diphtherietoxin zu immunisieren, selbst wenn sie mit $\frac{1}{1000000}$ der Dosis letalis begannen.

Während beim aktiv immunisierten Tiere Ueberempfindlichkeit trotz großen Antitoxingehaltes entstehen kann, kann umgekehrt der Antitoxingehalt zu Verlust gehen, ohne daß die individuelle Immunität abnimmt.

Ein mit Diphtherietoxin vorbehandeltes Pferd lieferte ein antitoxisches Serum zwischen 200—300 Einheiten schwankend. Nach 5 Jahren begann der Titer andauernd zu sinken; auch ließ sich das Sinken durch intravenöse Injektionen von Toxin nicht aufhalten. Dabei war die Immunität des Tieres selbst nicht vermindert, da es die 75000-fache tödliche Dosis für ein Meerschweinchen, ohne febril zu reagieren, vertrug (Metschnikoff, p. 392).

Ursprünglich reagierte es auf 10 ccm Diphtherietoxin mit Temperaturerhöhung von 1° . Später, als das Blut 350 IE. enthielt, brauchte man 350 ccm, um dieselbe Temperatursteigerung zu erzielen. Trotz Verlustes der antitoxischen Fähigkeit des Blutes, brachte dann später eine Injektion von 250 ccm nicht einmal Temperatursteigerung hervor.

Daß nach Salomonsen und Madsen der Antitoxingehalt nach einer Wiederholung der Toxininjektion 42000mal stärker abnimmt, als wenn man dasselbe Blut außerhalb des Tierkörpers mit dem Toxin gemischt hätte, sei nur nebenbei erwähnt.

Aus unseren Versuchen¹⁾ ergeben sich für die Giftbindung folgende zwei Möglichkeiten; entweder die Bindung ist eine feste, irreversible, nach den Prinzipien Toxin-Antitoxinbindung, die es allerdings zulassen, daß unter bestimmten Verhältnissen (Massenwirkung) eine gewisse Reversibilität dennoch zustande kommt (Ehrlich, Dönitz u. A.), oder zweitens die Bindung ist eine ganz andersartige. Die Organe halten das Toxin fest, aber provisorisch, ohne daß eine fest werdende Bindung einträte; sie lassen dann das Gift aber auch wieder los, sowohl im Tierkörper selbst, als auch dann, wenn im Experiment das Organ mit dem locker gebundenen Gift einem zweiten Tier injiziert wird.

Man darf daher nicht weiterhin von Giftbindung reden, ohne sich darüber auszusprechen, welche von diesen beiden in ihrer Bedeutung sehr differenten Bindungsweisen gemeint ist. In der bisherigen Literatur hat diese Unklarheit zu schwerer Verwirrung geführt. Wenn Metschnikoff z. B. zeigen will, daß die Leukocyten das Gift binden = neutralisieren und er zu diesem Zweck nachweist, daß man mit diesen Leukocyten ein zweites Tier tetanisch machen kann, so ist ihm dabei ein allerdings begreiflicher, logischer Fehler untergelaufen. Die Leukocyten haben das Gift nicht gebunden im Sinne einer Neutralisierung, sondern haben es an sich genommen und geben es wieder von sich. Ich be-

1) Cf. im Anhang Versuche über den Titer des benutzten Giftes und über die Empfindlichkeit der einzelnen Tierspecies.

zeichne daher diesen Vorgang als **Attraktion** und trenne ihn scharf von der eigentlichen **Bindung** (Fixation). Injizierte ich einem Tier eine gewisse Menge Gift ins Blut, so ist es, im Sinne der Toxin-Antitoxinbindung von den Organen nur dann gebunden (fixiert), wenn die Organe einem weiteren Tier eingespritzt bei diesem **keine** tetanischen Erscheinungen auslösen. Ist das Toxin zwar aus dem Blute des injizierten Tieres verschwunden, aber in seinen Organen noch quantitativ nachweisbar, so ist es nur **scheinbar** gebunden, es ist nur **attrahiert**.

Die beiden Formen der Toxinbindung werden vielleicht dem Verständnis näher gerückt, wenn man sie mit einem schon hinreichend bekannten Vorgang in Analogie setzen kann. Der Vergleich ist um so ansprechender, als Ehrlich bei der Begründung der Seitenkettentheorie ebenfalls von einem Vergleich aus der Farbstoffchemie ausgegangen war. Die beiden Bindungen des Toxins sind vergleichbar mit der sogenannten chemischen und physikalischen Färbung, für welche Bezeichnung Michaelis die Begriffe Injunktion und Insorption eingeführt hat. Bei der chemischen Färbung (der Injunktion) ist die Bindung zwischen Farbstoff und Zelle eine so feste (chemische), daß sie durch indifferente Lösungsmittel nicht gesprengt werden kann, während bei der physikalischen Färbung eine Entfärbung durch chemische indifferente Lösungsmittel, wie Wasser, Glycerin, Alkohol etc. erzielt wird. Der Vergleich läßt sich auf die Toxinbindung fast völlig übertragen. Die chemische Bindung, im Sinne der Toxin-Antitoxinbindung, ist irreversibel, so daß sie unter dem Einfluß relativ indifferenter Stoffe, wie des Serums und der Organsäfte, nicht gesprengt wird, während das von Organen nur attrahierte Toxin unter der Wirkung eben dieser Stoffe in Freiheit gesetzt wird, vergleichbar den Farbstoffwolken, die aus dem gefärbten Präparat im Alkoholbade aufsteigen.

Es liegt nun die Frage sehr nahe, welche Bedeutung dieser Attraktion zukommen solle, und welchen Zweck es habe, daß die Organe das Gift attrahieren, wenn sie es nachher doch wieder in Freiheit setzen. Eine solche Frage ist unter Umständen müßig, denn es genügt auf das Vorhandensein eines solchen Vorgangs hinzuweisen, um verschiedene Fehlerquellen, welche in der Forschung bisher zu falschen Anschauungen geführt haben, zu eliminieren. Denn das Organ könnte ja versuchen, das Toxin an sich zu nehmen und unschädlich zu machen und es dann doch wieder fortstoßen, um sich nicht zu schädigen, ähnlich wie man ein glühendes Eisen, das man in die Hand nimmt, auch wieder losläßt. Es erscheint in diesem Fall jedoch möglich, die biologische Bedeutung der Attraktion schon jetzt mit Wahrscheinlichkeit zu charakterisieren. Durch die Attraktion wird erreicht, daß nicht die ganze im Körper befindliche Giftmenge auf einmal in das empfindliche Organ gelangt, sondern daß immer nur kleine Dosen frei werden und an diese Stelle gelangen können. Hierdurch wird verschiedenes gewonnen. Wie man weiß, sind die Toxine, speziell das Tetanustoxin gegen Oxydation außerordentlich empfindlich. Es wird den oxydativen Kräften des Körpers, darunter den Leukocyten, Gelegenheit gegeben, einen Teil des in die Zirkulation gelangenden Giftes zu oxydieren, soweit es die oxydativen Fermente nicht schon getan haben, während das Toxin im Organ attrahiert war. Des weiteren wird das empfindliche Organ vor Ueberschwemmung mit dem Gift behütet, und es wird schließlich Zeit gewonnen, die Reserven des Körpers, unter Umständen auch schon inzwischen neugebildete spezifische Immunkörper, in Aktion zu setzen, die den Körper dann zu schützen

in der Lage sind, wenn die gewissermaßen provisorische, durch Attraktion bedingte Immunität am Ende ange-
langt ist.

Es soll hiermit nicht gesagt sein, daß die Attraktion immer ein Tier zu schützen vermag, aber in jedem Fall ist sie für das betreffende Tier eine wichtige Einrichtung. Ueber die Art, in welcher die Attraktion zu stande kommt, kann man sich nur schwer eine sichere Vorstellung machen. Es ist jedem unbenommen, eine besondere Art von Rezeptoren anzunehmen, welche eine weniger feste Verbindung mit den Toxinen eingeht, als die Antitoxine. Wahrscheinlicher ist es jedoch, daß es sich um Adsorptionsvorgänge handelt, wobei die flächenhafte Verteilung des Giftes die Einwirkung von Fermenten und damit den Abbau des Giftes außerordentlich erleichtern würde.

Versuchsanordnung. Unsere Versuche, welche die Grundlage obiger Ausführungen bilden, wurden in folgender Weise angestellt: Es wurden verschiedenen Tieren, z. B. Kaninchen, Fröschen, Hühnern etc. abgestufte Mengen Tetanustoxin intravenös resp. in den Lymphraum beigebracht und nach wechselnder Zeit Blutkörperchen, Serum, Niere, Leber, Milz, Gehirn, Muskeln, Lunge etc. auf ihren Gehalt an Tetanustoxin geprüft. Fand man z. B. das Blut frei, das Tetanusgift dagegen in den Organen, so hatten die Organe es attrahiert, war es aber im Blut und auch in den Organen **nicht** nachzuweisen, so war es gebunden. Aus der verschiedenen Dosierung und der verstrichenen Zeit nach der Giftinjektion konnte man dann Schlüsse über stattgehabte Giftbindungen und Giftattraktionen ziehen (cf. im Anhang die zugehörigen Protokolle).

Eine Ergänzung dieser Resultate wurde in der Weise erzielt, daß zerriebene Organe¹⁾ des gesunden, nicht vergifteten Tieres mit abgestuften Mengen Tetanustoxins versetzt wurden und nach mehrstündigem Stehen Mäusen und Meerschweinchen injiziert wurden. Diese Versuchsreihen ergaben sehr wesentliche Ergänzungen der ersten. Denn wenn es sich hier auch nicht um lebende Organe handelte wie im ersten Fall, so ist es doch nur auf diese Weise möglich, das Bindungsvermögen der Organe für Gifte quantitativ festzustellen (cf. im Anhang die zugehörigen Protokolle). Eine solche quantitative Feststellung ist bei intravenöser Injektion beim lebenden Tier darum nicht möglich, weil durch Verteilung des Giftes auf die ganze Körpermasse, über deren Einzelheiten man nicht informiert ist, eine solche Verdünnung des Giftes erfolgt, daß man, um zu einwandfreien, außerhalb der Versuchsfehlergrenzen liegenden Resultaten zu kommen, relativ sehr große Dosen Giftes injizieren muß, bei denen die Grenzen des Bindungsvermögens leicht überschritten werden. Eine weitere Ergänzung erhielten die Resultate über Attraktion durch eine 3. Versuchsserie: Durch Versuche, die sich damit befaßten, Organverreibungen mit dünnen Toxinlösungen zu versetzen und nach ein- bis mehrstündigem Stehen die Organe wiederholt zu waschen, zu zentrifugieren und dann wieder Tieren einzuspritzen. Man konnte auf diese Weise feststellen, ob unter Umständen das Attraktionsvermögen das Bindungsvermögen noch übertrifft (cf. im Anhang die zugehörigen Protokolle).

Die zu den Versuchen benutzten Tiere wurden steril eröffnet und

Im Broyeu Latapie oder in Reibschale bei -15° .

die Organe steril zerkleinert. Leber und Gehirn, die mit dem Broyeur Latapie stets gute Resultate ergaben, mit diesem, die anderen Organe, wie z. B. Niere, Muskel, wurden in einer Eis-Viehsalzmischung gefroren und dann längere Zeit hindurch in einer Reibeschale verrieben. Die Herstellung dieser Verreibungen speziell beim Muskel ist nicht mühe-los, und selbst der gewandte Experimentator hat Tage, wo ihm fehlerfreie Versuche nicht gelingen wollen, weil immer wieder ein Bröckel die Kanülen der Spritze bei der Injektion verstopft. (Die Anwendung sehr weiter Kanülen ist selbstverständlich Voraussetzung für diese Versuche.) Ich habe mir hierfür speziell kurze weite Kanülen anfertigen lassen. Die Organverreibungen werden sofort nach der Herstellung dem Tier eingespritzt, wenn das die Organe liefernde Tier vorher mit Toxin intravenös injiziert worden war (1. Versuchsserie). Stammen die Organe vom gesunden Tier, und wurden erst zur Prüfung ihres Bindungs- bzw. Attraktionsvermögens mit Toxin versetzt, so wurden sie erst nach 1 bis 2-stündigem Stehen bei 37° den Versuchstieren injiziert (2. Versuchsserie). Alle weiteren Einzelheiten der Versuche sind aus den Protokollen selbst zu ersehen, ebenso eine Reihe weiterer angestellter Versuche über die Giftbindung der Gehirnätherextrakte, über den Einfluß wiederholten Waschens, die bindende Kraft des Gehirns, über die bindende Kraft des Gehirnwaschwassers und über cerebrale Toxininjektionen (s. Anhang).

Die Versuche ergeben des weiteren, daß nicht nur die exquisit giftempfindlichen Organe Rezeptoren besitzen, sondern daß die Rezeptoren außerordentlich verbreitet sind, besonders dann, wenn man auch den Vorgang der Attraktion sich als Rezeptorenwirkung vorstellen will. Die außer im Nervensystem beim Kaninchen noch in anderen Organen vorkommenden Rezeptoren sind keine **Ausnahmen**, sondern gleiche **Rezeptoren** finden sich auch bei den refraktären Tieren, wie beim Frosch und Huhn. Wie wichtig diese experimentell fundierte Kenntnis ist, geht daraus hervor, daß die Ansichten der beiden führenden Geister auf dem Gebiet der Immunitätslehre sich diametral gegenüberstanden (Ehrlich und Metschnikoff).

Ehrlich: Die Antitoxinbildung ist an Rezeptoren, d. h. an Giftempfindlichkeit geknüpft und

Metschnikoff: Die Antitoxinbildung ist **nicht** daran geknüpft, daß das Tier sensibel ist (Immunität, p. 73).

Trotz dieser scheinbar absoluten Divergenz lassen sich beide Anschauungen doch vereinigen, wenn man den jetzt durch unsere Versuche unhaltbar gewordenen Satz aufgibt, daß das Vorhandensein von Rezeptoren an den Organen Giftempfindlichkeit zur Folge habe¹⁾. Denn es scheint, daß eine Entstehung einer Immunität nur dann zu stande kommt, wenn Rezeptoren von nicht empfindlichen Organen abgestoßen werden. Sind nun **nur** in empfindlichen Organen Rezeptoren vorhanden, so tritt eine antitoxische Immunität überhaupt nicht ein. Das beste Beispiel hierfür ist nach unseren Untersuchungen

1) Es ist vielleicht von Interesse, aus der Ansicht der beiden neuesten Tetanusbearbeiter, in Kraus, Levaditi, Technik und Methodik der Immunitätsforschung (G. Fischer, 1907) zu ersehen, daß die hier geäußerten Anschauungen — alles in allem vollkommen neu sind, wenn es auch nach der Anführung der divergierenden Literaturangaben manchmal fast scheint, als sagte man schon Bekanntes.

Die Autoren sagen auf p. 127: Nach den angeführten Versuchen kommt nur dem Centralnervensystem, hauptsächlich dem Gehirn ein bedeutendes Giftbindungsvermögen zu. Andere Organe besitzen es gar nicht oder höchstens in geringem Maße.

das Meerschweinchen, bei dem außer im Gehirn resp. Centralnervensystem fast keine Rezeptoren vorhanden sind, und bei dem eine antitoxische Immunität gegen Tetanus auch nicht eintritt (vgl. hierzu auch Dungen. Die Antikörper, Jena 1903, Wassermann-Citron, Bildung der Typhusimmunkörper, Zeitschr. f. Hyg. 1905).

Derartige Anschauungen sind in der Literatur schon vereinzelt ausgesprochen worden, haben sich aber keine Geltung verschaffen können, weil der direkte Beweis nicht erbracht war. Knorr hat z. B. auf Grund der Tatsache, daß man beim Kaninchen schon Antitoxin im Blute findet, während die Extremitäten noch tetanisch kontrahiert sind, den Schluß gezogen, daß es außer dem Nervensystem noch lebende Zellen gibt, die Gift absorbieren und Antitoxin produzieren. Der Beweis ist darum nicht zwingend, weil die Möglichkeit besteht, daß die noch tetanisch erkrankte Zelle doch schon Antitoxin produziert. Roux und Borrell, Marie, Metschnikoff und Knorr (Münch. med. Wochenschr. 1898) haben dem Gehirn die Antikörperproduktion abgesprochen, weil das lebende Gehirn Tetanusgift nicht zu neutralisieren vermag. Der zwingende Beweis dafür, daß das Gehirn **nicht** der Sitz der Antikörperproduktion ist, ist aber erst dadurch erbracht, daß Tiere, welche wie das Meerschweinchen **nur** im Gehirn Rezeptoren haben, kein Antitoxin bilden. Denn nicht einmal der Nachweis, daß das Gehirn immuner Tiere nicht gegen cerebrale Giftinjektion unempfindlich ist, spricht absolut gegen eine Antitoxinbildung im Gehirn, da ja nach der Ehrlichschen Seitenkettentheorie die noch an der Zelle haftenden Rezeptoren niemals einen Schutz verleihen¹⁾ (cf. im Anhang Protokolle über intracerebrale Tetanusgiftinjektion).

Zwischen empfindlichem Organ und Gifteintrittspforte sind wie Filter die mit wechselnder Rezeptorenmenge und Attraktion ausgestatteten Organe eingeschaltet.

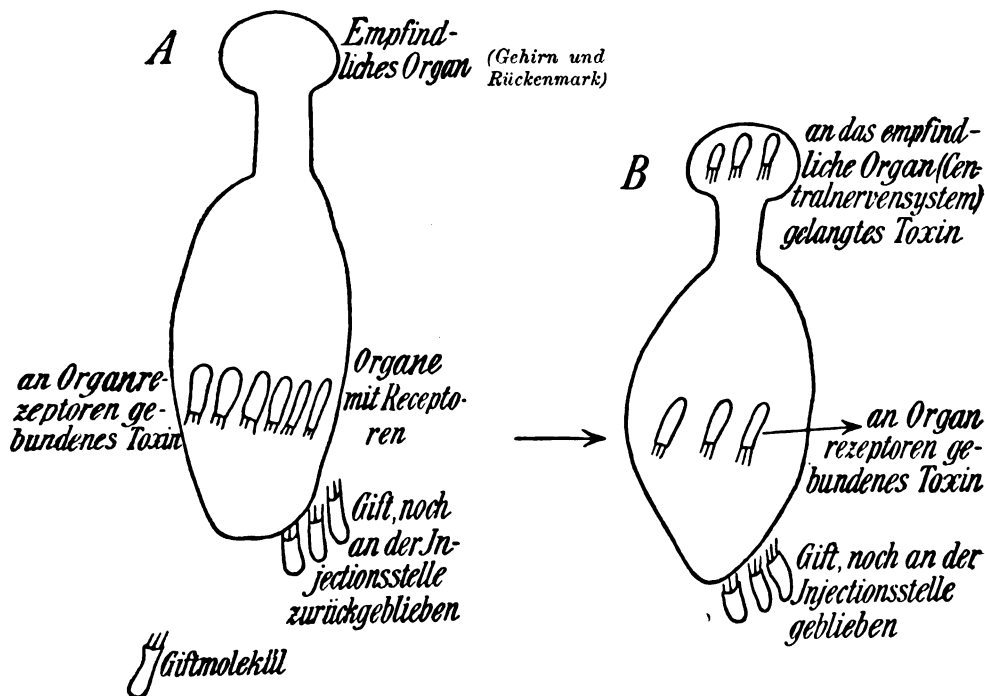
Schematische Darstellung. In beiden Fällen A und B wird angenommen, daß 9 Giftmoleküle subkutan einverleibt werden. 3 Moleküle finden sich bei A und B an der Injektionsstelle. Bei A sind 6 Moleküle an die Organrezeptoren gebunden, in das empfindliche Organ ist kein Gift gelangt. Das Tier lebt und ist gesund. Bei B sind 3 Moleküle an die Organrezeptoren gebunden, 3 sind an das empfindliche Organ (Centralnervensystem) gelangt. Das Tier erkrankt resp. stirbt.

Das Schema wird wohl deutlich zeigen, auf was es bei der Toxinbindung ankommt, nämlich auf das Freibleiben des Centralnervensystems vom Toxin. Dies gibt erst den Schlüssel für das Verständnis. In der neuesten Zusammenfassung über den Tetanus von Eisler und Pflüger, Kraus, Levaditi (Jena, G. Fischer, 1907) sagen diese sehr richtig, daß die Organe der einzelnen Tiere sich sehr wesentlich in ihrem Vermögen, Toxine zu binden, unterscheiden. Da sie aber unter der sug-

1) Für die Richtigkeit dieser Anschauung hat Marie (Soc. de biol. 1907. No. 22) vor wenigen Tagen den absolut zwingenden Beweis erbracht. Er zeigte, daß subkutan gegen Tetanus immunisierte Tiere an der gleichen cerebralen injizierten Dosis sterben, wie überhaupt nicht vorbehandelte Tiere. Des weiteren zeigt er, daß eine cerebrale Immunisierung überhaupt nicht zu erzielen ist. Die Tiere, bei denen durch cerebrale Injektionen eine cerebrale Immunisierung herbeizuführen versucht wurde, starben, sowie die Dosis erreicht wurde, die vom Gehirn aus Tetanus erzeugt, am Gehirntetanus, ohne vorher irgend welche Erscheinungen aufgewiesen zu haben, welche diesen Ausgang hätten voraussehen lassen.

gestiven Wirkung der herrschenden Vorstellung stehen, daß Giftbindung eigentlich etwas zur Krankheit führendes Schädliches ist, fahren sie fort, ohne eine Gesetzmäßigkeit ableiten zu können. „Es kann kein direkter Zusammenhang zwischen Empfänglichkeit und Giftbindungsvermögen konstatiert werden, da doch das Meerschweinchen empfänglicher ist als das Kaninchen, und bei letzterem das Gift weniger lange nachweisbar ist, als bei ersterem.“

Wir haben im vorhergehenden immer von einem empfindlichen Organ gesprochen. Dieses empfindliche Organ ist in der Mehrzahl der Fälle das Gehirn. Die klinischen Erscheinungen weisen darauf hin, daß die Verankerung des Toxins an den vegetativen Organen nicht zu einer so schweren Schädigung führt, die genügend wäre, den Tod zu erklären.



Außer diesem indirekten Beweis sprechen die klinischen Erscheinungen auch direkt dafür, daß der Tod vom Gehirn aus erfolgt, ein reiner Gehirntod ist. Es genügen experimentell — von Ausnahmen abgesehen — cerebral weit geringere Mengen Toxins als bei anderweitiger Zuführung. Einen Ausnahmefall bildet beim Tetanusk Gift das Meerschweinchen, bei dem aber die Organe außer dem Gehirn, keine Rezeptoren enthalten. Auch natürliche immune und aktiv immunisierte Tiere können cerebral vergiftet werden. Nach Marie (Soc. de biol. 1907. No. 22) ist eine Immunisierung vom Gehirn aus unmöglich (s. Anm. auf vorstehender Seite). Es gilt dies nicht nur für Tetanusk Gift allein, Meerschweinchen und Kaninchen sind auch sehr empfindlich für intracerebrale Injektionen von Diphtheriegift (Metschnikoff, p. 405).

Die Anschauung hat sich als irrig erwiesen, daß etwa tetanische Zustände dann eintreten, wenn nach Absättigung der Ge-

hirnrezeptoren zur Bindung des Giftes keine Rezeptoren mehr vorhanden sind. Wie leicht nachzuweisen ist, ist stets sogar im tetanisch gestorbenen Tier noch ein Ueberschuß von freien Rezeptoren im Gehirn vorhanden. Gerade die Verankerung des Toxins im Gehirn führt Krankheit und Tod herbei, auch die supponierte Vermehrung der Rezeptoren bei der aktiven Immunisierung verleiht keinen Schutz (wirkt also nach Roux und Borrell nicht als Antitoxin). Alles strebt beim natürlich immunen und beim aktiven immunisierten Tier dahin, das Gift durch Bindung und Attraktion vom Ort der Wirkung, dem Gehirn, fernzuhalten.

Ohne diese ausgesprochene Gehirntheorie hat Ehrlich auf dem internationalen medizinischen Kongreß in Paris. 1891. p. 30 von einer „Déviation“ der Toxinmoleküle von den lebenswichtigen Zentren durch Rezeptoren an minder wichtigen Organen beim speziellen Fall des Kaninchens gesprochen, **Roux und Borrell sogar von einer Ablenkung des Giftes vom Nervensystem**. Nach unseren Versuchen gilt diese Anschauung nicht nur für den speziellen Fall des Kaninchens, sondern zeigt sich als ein allgemeingültiges Gesetz.

Die natürliche Immunität findet durch diese Feststellung ihre ganz ungezwungene Erklärung. Es hat bisher Schwierigkeit gemacht, zu erklären, daß man beim natürlich immunen Tier im Blutserum keine Antitoxine findet, da jedes Analogon fehlte. Die Filterwirkung der Organe gibt ein leichtes Verständnis dafür. Zum Beweise, daß diese Fundamentaltatsache völlig unbekannt war, führe ich Oppenheimer (Toxine. p. 101) an. „Bei refraktären Tieren kreist das Tetanustoxin lange Zeit in der Blutbahn, ohne von Organen gebunden zu werden.“

Das natürlich immune Tier, das seine Antitoxine gewissermaßen in den **Organen** besitzt, braucht diese Rezeptoren nicht in das Serum abzustößen. Es ist von Interesse, daß umgekehrt die künstlich erzeugte aktive Immunität in den Modus der natürlichen Immunität übergehen kann. Man denke an Metschnikoffs Pferd, bei welchem trotz fortwährenden Absinkens der Antitoxine im Serum doch die Giftunempfindlichkeit die gleiche blieb.

Mit den hier entwickelten Anschauungen stimmen alle sonst beobachteten Tatsachen sehr gut überein, besonderes Interesse verdienen die mit Schlangengift angestellten Versuche.

Schon 1881 hatte Fontana beobachtet, daß Viperngift für Tiere der gleichen Species ungiftig ist. Phisalix (Soc. de biol. 1903. No. 27) zeigte, daß Viperngift intraperitoneal injiziert, bis zu 40 mg, ohne Wirkung blieb. Erst 45—50 mg machen bei den Vipern leichte Erscheinungen: Veränderung der Reaktion auf Reize und eine Art Starre. Das Tier erholt sich aber bald wieder; erst bei Einverleibung von 100—120 mg geht das Tier sehr schnell an der Vergiftung zu Grunde. Nach 1 Stunde zeigt sich Muskelschwäche und Herabsetzung der Sensibilität, die Atmung wird immer langsamer und nach 20—30 Stunden stirbt das Tier an Atemstillstand. Bei der Sektion finden sich nur Blutaustritte in den verschiedenen Organen.

Dagegen genügen **Intracerebral** meist 2—4 mg, um unter sehr charakteristischen Erscheinungen: Muskelzittern, Muskelschwäche, ataktische Bewegungen, den Tod herbeizuführen.

Vom Gehirn aus ist also $\frac{1}{25}$ der Giftmenge, die vom Peritoneum aus den Tod herbeiführt, wirksam¹⁾.

Wir müssen vom Standpunkt der Gehirntheorie noch einmal die Tatsache diskutieren, daß ein für die eine Tierart anscheinend neutrales Toxin-Antitoxingemisch für eine andere Tierart noch toxisch resp. tödend wirkt. Es hat dies Weigert veranlaßt (Ergebn. d. allgem. Pathol. Bd. IV. 1898. p. 121), anzunehmen, daß im Organismus eine Substanz durch eine besonders starke Affinität zum Toxin das neutrale Toxin-Antitoxingemisch wieder sprengt. Aus unseren Befunden läßt sich eine viel ungezwungenere Erklärung für die Tatsache geben. Wir kennen doch kein objektiv neutrales Toxin-Antitoxingemisch, sondern wir können nur am Tiere prüfen, ob die eingespritzte Mischung bei einem bestimmten Tiere keine Erscheinungen auslöst. Erscheinungen aber bleiben aus, wenn kein Gift zum Zentralnervensystem gelangt. Denn zwischen Injektionsstelle und Zentralnervensystem liegen eben die Filterorgane, welche Gift an sich nehmen. Da die Menge des auf diese Weise vom Zentralnervensystem ferngehaltenen Toxins bei den einzelnen Tierarten eine verschiedene ist, ist es leicht verständlich, daß eine für eine Tier-species neutrale Mischung für ein anderes Tier noch toxisch ist.

Wenn so nach unseren Untersuchungen **alle Organe** an dem Ausgang der Vergiftung mitbeteiligt sind, müssen wir notgedrungen die bei der Infektion und Intoxikation sich abspielenden Erscheinungen etwas mehr vom klinischen Standpunkt aus betrachten lernen. Der Kliniker kennt ja seit langem den Einfluß schädigender Faktoren (Superinfektion, Abkühlung und sonstige Schädigung der Verteidigungskraft des Organismus gegenüber den Bakterien) auf den Verlauf einer Infektion. Die klinischen Erwägungen bezogen sich aber nur auf Infektionen mit lebenden Infektionserregern und hatten bisher bei der experimentellen Toxinvergiftung und bei der Antitoxinimmunität keinen Platz. Es war bisher vollkommen unverständlich, wenn z. B. ein Toxin-Antitoxingemisch für das eine Kaninchen unschädlich gewesen war, einem gleich großen Kaninchen derselben Rasse injiziert, das irgend einer schädigenden Vorbehandlung unterzogen war, sich als schädlich erwies. Solche Fälle sind aber nach der Literatur vielfach beobachtet worden. Ein Kaninchen, das eine neutrale Tetanusantitoxin-Toxinmischung erhält, erkrankt tetanisch, wenn es z. B. vorher den *Vibrio Massauah* injiziert erhalten hatte, ebenso starben mit Tetanusantitoxin über 1000-fach passiv immunisierte Meerschweinchen, wenn man ihnen nachträglich eine einfach tödliche Dosis Tetanustoxin zusammen mit anderen Bakterienprodukten injizierte. Gleiche Erfahrungen liegen mit Diphtheriegift vor. Eine weitere Reihe analoger Beobachtungen sind bei den zahlreichen Versuchen gefunden worden, welche zu dem Zwecke unternommen wurden, die Spezifität der Aggressine anzugreifen (Dörr u. A.)²⁾.

1) Die Resistenz der Vipern, subkutan oder peritoneal mit Viperngift injiziert, ist 500–600mal größer als die des Meerschweinchens.

2) Vincent (Soc. de biol. 1907. No. 23) fand, daß Antitoxin sogar den an sich unschädlichen Sporen gegenüber unwirksam wurde, wenn man die Tiere überhitzte. Einzelheiten s. l. c.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Endotoxine und der Antiendotoxine bei Cholera und Typhus.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr. Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Pfeiffer.]

Von R. Pfeiffer und E. Friedberger.

In früheren Arbeiten, die bis zum Jahre 1895 zurückgehen, hatte der eine von uns (R. Pfeiffer) sich eingehend mit der Frage beschäftigt, ob in dem Serum von mit Cholera vorbehandelten Tieren Substanzen auftreten, die eine antitoxische Wirkung gegen die Giftsubstanzen der Choleravibrionen, speziell gegen die Endotoxine, auszuüben vermögen (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. p. 208—217). Die Versuche führten damals zu einem negativen Ergebnis.

Das Serum von Ziegen, die lange Zeit subkutan mit steigenden, schließlich kolossalen Dosen (bis zu 400 Kulturen lebender Choleravibrionen auf einmal) vorbehandelt waren, vermochte weder die Giftsubstanzen, die in lebenden oder durch Chloroformdämpfe sterilisierten Cholerakulturen enthalten waren, noch die gelösten Toxine, welche in 20 Tage alter, mit Toluol abgetöteter Cholerabouillon nachgewiesen wurden, zu neutralisieren. Ein gewisser Einfluß des Serums auf die Vergiftung trat allerdings hervor.

Wurden nämlich die betreffenden toxischen Substanzen mit erheblichen Serummengen gemischt intraperitoneal injiziert, so vertrugen die Versuchsmerschweinchen das 2—3-fache Multiplum einer sonst für Kontrolltiere tödlichen Giftdosis; doch ergaben Kontrollen mit entsprechenden Mengen von Normalserum ganz ähnliche, wenn auch etwas geringere hemmende Effekte auf das Zustandekommen der Endotoxinvergiftung. R. Pfeiffer deutete diese Ergebnisse seinerzeit dahin, daß es sich wahrscheinlich wesentlich um eine Erschwerung und Verlangsamung der Resorption der giftigen Bakteriensubstanzen durch die Gegenwart des Serums handele, während die Mitwirkung echter Antitoxine zur Erklärung nicht notwendig erschien.

Trotzdem hat Pfeiffer die Möglichkeit von Antiendotoxinen niemals bestritten. Er drückt sich folgendermaßen aus (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. p. 216. Abs. 4): „Ich will damit keineswegs behaupten, daß es überhaupt unmöglich sei, antitoxische Stoffe gegen die Bakterienkörpergifte zu erzeugen; nur so viel ist sicher, in dem von mir hergestellten Choleraserum sind sichere giftfeindliche Wirkungen bisher nicht nachzuweisen. Nirgends sind jedoch Urteile a priori weniger angebracht als in der Bakteriologie, wo die Gewalt der Tatsachen schon so oft die schönsten Theorien über den Haufen geworfen hat.“

Zu gleichen und ebenfalls wesentlich negativen Resultaten kamen Pfeiffer und Kolle bei ihren Untersuchungen über die Giftwirkungen der Typhusbakterien und über das Serum gegen Typhus hochimmunisierter Tiere (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXI. p. 203 ff.).

Die Auffassung, welche in den genannten Arbeiten niedergelegt ist, daß die Vergiftung bei Infektionsprozessen der Hauptsache nach zustande kommt durch die Resorption der toxischen Bakterienleibersubstanz, und daß bei der Immunisierung hauptsächlich solche Schutzstoffe ent-

stehen, welche die Bakterien zerstören, aber gegen die endotoxische Substanz ohne neutralisierende Wirkung sind, hat sich jahrelang einer fast allgemeinen Anerkennung erfreut, obwohl schon sehr frühzeitig durch Behring und Ransom, Metschnikoff und Taurelli und Salimbeni für die Cholera die allgemeine Gültigkeit dieser Annahme bestritten worden ist.

Die genannten Autoren wiesen nämlich nach, daß in den Filtraten von Cholerabouillonkulturen giftige Substanzen auftreten, welche Meer-schweinchen unter ganz ähnlichen Erscheinungen töten, wie sie bei der experimentellen Cholerainfektion beobachtet werden, und daß es gelinge, gegen diese Toxine Antitoxine zu erzeugen. R. Pfeiffer macht dem-gegenüber geltend, daß diese löslichen Choleragifte der Bouillonkulturen immer erst dann auftreten, wenn durch die mikroskopische Untersuchung eine weitgehende autolytische Zerstörung der massenhaft zugrunde gehen-den Cholerabakterien nachgewiesen ist, und hält daher diese Gifte für durch fermentative Prozesse abgebaute und dadurch löslich gewordene Bakterienleibessubstanzen, welche zu dem originären Gift in demselben Verhältnis stehen wie z. B. Peptone und Albumosen zu den nativen Eiweißkörpern.

In seinem Referate für den internationalen Hygienekongreß Brüssel 1903 definiert er seinen Standpunkt, wie folgt (p. 18 des Referates, s. auch Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXV. p. 240): „Wir gewinnen nun auch ein Verständnis für die Tatsache, daß bakterizide Sera auf die Bakterienendotoxine nicht antitoxisch wirken. Es liegt das eben daran, daß die toxischen Bakterien-substanzen so überaus kompliziert gebaut sind, und daß sie deshalb so gut wie immer nur in unvollständig gesättigtem Zustande an die für ihren toxischen Effekt empfänglichen Organzellen herangelangen. Ich supponiere a priori, daß Bakterien, welche so weit mit Ambozeptoren beladen sind, daß sie ihrer vaccinierenden Fähigkeit beraubt sind, auch ihre vergiftende Wirkung eingebüßt haben werden. Wir sehen, daß von dem nun gewonnenen Standpunkte aus in letzter Instanz antitoxische und bakterizide Serumfunktionen auf ein gemeinsames Prinzip hinauslaufen, und daß es unberechtigt ist, wenn es immer und immer wieder auch jetzt noch den bakteriziden Seris ge-wissermaßen zum Vorwurf gemacht wird, daß sie nicht auch zugleich antitoxisch wären.“ „Weder im Roux'schen Choleraserum noch in dem Wassermann'schen *Pyocyaneus*-Serum sind echte Antitoxine gegen-über den Endotoxinen der Cholera- resp. *Pyocyaneus*-Bakterien, die ich beim Zustandekommen der Infektionsprozesse als ausschlaggebend betrachte, enthalten, sondern es wurden hier neben den bakteriziden Immun-körpern Antitoxine gefunden, die nur gegen gelöste, in der Kulturflüssig-keit frei enthaltene giftige Derivate der Cholera- resp. *Pyocyaneus*-Bakterien sich wirksam zeigten. Im Falle der Cholerabakterien ist wohl anzunehmen, daß die Bouillonkulturfiltrate durch Autolyse mehr weniger abgebaute Endotoxine enthalten, die deshalb in ihrer Struktur außer-ordentlich vereinfacht sein werden und aus diesem Grunde antitoxisch wirkende Schutzstoffe bei der Immunisierung erzeugen können.“

In den letzten Jahren sind nun von verschiedenen Seiten Tatsachen veröffentlicht worden, welche die von R. Pfeiffer vertretenen Ansichten über die Infektionsgifte wesentlich zu modifizieren scheinen, und welche vor allen Dingen die Möglichkeit der Erzeugung echter Antitoxine gegen diese endotoxischen Substanzen behaupten. Es sind hier zu nennen die Untersuchungen von Besredka, Macfadyen, Brau und Denier,

Kraus, Kraus und Russ, Bergell und Meyer. Alle diese Autoren gehen so vor, daß sie aus den Bakterien durch Auslaugung, durch Autolyse, durch Zerreiben bei niedriger Temperatur giftige Stoffe extrahieren, um dann gegen dieselben bei der Immunisierung Antitoxine zu erzeugen.

Für ein kleines Laboratorium mit relativ sehr beschränkten Mitteln war es unmöglich, alle diese Angaben gleichzeitig nachzuprüfen. Mit um so größerem Danke ist das Entgegenkommen von Kraus und von Meyer und Bergell zu begrüßen, die uns durch Uebersendung ihrer antitoxischen Cholera- und Typhussera die Möglichkeit geboten haben, in dieser Frage durch eingehende eigene Untersuchungen Stellung zu nehmen.

A. Prüfung der Krausschen antitoxischen Cholerasera.

Auf unsere Bitte sandte uns R. Kraus genügende Quantitäten von Seris, die durch Immunisierung von Pferden mit giftigen Produkten der El Tor-Vibrien gewonnen sind.

Die Serumproben waren bezeichnet als „Kalif“ und „Lector“.

Bekanntlich trennt Kraus die El Tor-Vibrien von den typischen Cholerabakterien und zwar deshalb, weil sie ein Hämolysin in Bouillonkultur bilden, und weil in ihren Kulturen ein akut wirkendes Toxin auftritt, ähnlich wie es von Kraus schon vorher beim *Vibrio Nassik* gefunden worden ist. Bei dieser Sachlage könnte es überraschen, daß Kraus die El Tor-Sera auch der Choleraintoxikation gegenüber als wirksam befindet, doch glauben Kraus und Russ sich überzeugt zu haben (S.-A. p. 45), „daß das Antitoxin, gewonnen mit dem El Tor-Toxin, gewissermaßen als ein Universalantitoxin gegenüber den Toxinen pathogener Vibrien anzusprechen sein dürfte“. Er fügt hinzu: „Es scheint auch, daß die mit dem El Tor-Toxin hergestellten Antitoxine leichter zu gewinnen sind als die mit dem Saigon-Toxin erzeugten, und daß ihnen auch bessere kurative Eigenschaften zukommen dürften als den Choleraantitoxinen.“

„Das mit den Toxinen der spezifischen El Tor-Vibrien gewonnene Antitoxin wirkt nicht nur auf die homologen Gifte ein, wie das Antitoxin der Choleravibriogifte, sondern auf Gifte der verschiedenen toxischen Vibrien und auch auf die des Choleravibrio.“

Bei dieser Sachlage war es für uns bedeutungsvoll, uns zunächst ein eigenes Urteil darüber zu bilden, ob tatsächlich die Tor-Vibrien gegenüber den typischen Choleraerregern eine Sonderstellung beanspruchen können.

Zur Verfügung standen uns zur Prüfung dieser Frage Kulturen der El Tor-Stämme, die uns von Kraus übermittelt waren, und die inzwischen ohne Tierpassage in Intervallen von 1–2 Monaten auf Agar fortgezüchtet waren.

Nur eine dieser Kulturen, „Stamm V“, hat uns zu den nachfolgenden Versuchen gedient.

Wir konnten zunächst die Angaben von Kraus bezüglich der Hämolysinproduktion vollinhaltlich bestätigen. Sehr auffällig war ferner die geradezu frappierende Virulenz, welche die El Tor-Kultur schon nach wenigen Meerschweinchenpassagen für diese Tierart gewann. Während anfänglich bei der ersten Tierimpfung $\frac{1}{16}$ Cese intraperitoneal nicht tötete, stieg die Virulenz sehr bald auf $\frac{1}{500}$ Cese, ohne daß hiermit die Grenze erreicht zu sein schien. Etwas Derartiges haben wir bei typischen Cholerakulturen niemals zu konstatieren vermocht. Die Vibrien fanden

sich bei den gestorbenen Tieren nicht allein im Peritoneum, sondern auch regelmäßig im Herzblut, gelegentlich in direkt mikroskopisch nachweisbaren Mengen. Auch bei Impfungen in das Subkutangewebe trat selbst bei Verwendung kleiner Dosen bei Meerschweinchen der Tod ein, während Tauben durch intramuskuläre Injektionen nicht zu infizieren waren.

Sehr auffällig war des weiteren der überraschende Verlauf der Infektion. Bei größeren Dosen, $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{100}$ Oese, starben die Meerschweinchen bei peritonealer Impfung schon nach 5—6 Stunden und auch bei den kleinsten Dosen trat in der Regel schon nach 10—12 Stunden der Exitus ein.

Sehr charakteristisch für die El Tor-Infektion ist das frühe Auftreten von Vergiftungserscheinungen, das sich durch Schläffheit der Muskulatur und rapiden Temperatursturz schon innerhalb der ersten Stunde kundgibt. Es ist dies ein wesentlicher Unterschied der El Tor-Vibrionen gegenüber der typischen Cholera, bei der der Infektionsverlauf ein wesentlich langsamerer ist, und wo auch die Vergiftungserscheinungen erheblich später, kaum vor der 3. bis 4. Stunde sich bemerkbar machen. Betont zu werden verdient, daß die El Tor-Vibrionen, worauf Ruffer mit Recht großen Wert legt, offenbar unfähig sind, beim Menschen das Krankheitsbild der asiatischen Cholera auszulösen. Im übrigen haben wir wie Kraus, Kolle und Meinicke, Gotschlich u. a. uns davon überzeugt, daß mit Hilfe der serodiagnostischen Methoden eine Unterscheidung von El Tor- und Choleravibrionen unmöglich ist. Unter diesen Umständen läßt sich zurzeit ein endgültiges Urteil über die Stellung der El Tor-Vibrionen nicht abgeben. Man wird sich schwer dazu entschließen, sie ohne weiteres mit den typischen Choleravibrionen völlig zu identifizieren; dazu sind die Differenzen zu ausgeprägt. Andererseits dürfte es angesichts des serodiagnostischen Verhaltens unmöglich sein, die El Tor-Stämme als eine besondere Art zu bezeichnen. In jedem Fall ist an einer außerordentlich nahen Verwandtschaft dieser beiden Vibrionrassen festzuhalten.

Man könnte als ein bekanntes Beispiel aus der Botanik als Analogon etwa die Mandel anführen, deren bittere Varietät ein intensiv wirkendes Gift, die Blausäure enthält, welches der süßen Varietät fehlt.

Die rapiden Vergiftungssymptome der mit El Tor infizierten Tiere sind wohl zu beziehen auf das von Kraus entdeckte akut wirkende Toxin, welches auch von Kraus selbst bei echten Cholerastämmen vermißt wurde.

Wir haben dieses akute Toxin nicht wie Kraus in Bouillonkulturen aufgesucht, sondern was den natürlichen Verhältnissen entspricht, im Peritonealexsudat der an El Tor-Infektion eingegangenen Meerschweinchen. Die manchmal in reichen Mengen vorhandenen Exsudate von meist seröser Beschaffenheit wurden gesammelt, stark zentrifugiert bis zur möglichen Klarheit und dann ohne Filtration für unsere Giftversuche benutzt. Allerdings war zu berücksichtigen, daß dann immer noch lebende Vibrionen, wenn auch in geringer Zahl, darin sich vorfanden; wir benutzten den Kunstgriff, dieselben in jedem Falle durch Zusatz kleiner Mengen eines bakteriziden Choleraserums unschädlich zu machen, unter dessen Einfluß sie im Meerschweinchenperitoneum einer rapiden Auflösung verfielen, ohne Vermehrung im Tierkörper zu erfahren, ohne also eine Infektion zu erzeugen. Das hier benutzte Choleraserum stammte von Kaninchen, welche einmal intravenös eine minimale Menge

($\frac{1}{100}$ Oese) von 60° Choleravibrionen erhalten hatten. Wir durften voraussetzen, daß einem so hergestellten bakteriziden Serum antitoxische Nebenwirkungen wohl vollständig fehlen würden.

In den folgenden Tabellen finden sich zahlreiche Beispiele über den Infektionsverlauf und über die Giftwirkung der toxischen El Tor-Exsudate.

Wir haben fast in jedem Falle die Körpertemperatur der infizierten resp. vergifteten Tiere von Stunde zu Stunde verfolgt, da wir wissen, daß das Sinken der Körperwärme den sichersten Maßstab für das Eintreten der Choleraintoxikation und deren Fortschreiten darstellt. Wir waren so in den Stand gesetzt, uns auch bei Tieren, welche schließlich mit dem Leben davonkamen, ein Urteil über die Schwere der durchgemachten Vergiftung zu bilden und über etwaige antitoxische Serumwirkungen.

Tabelle I.

Giftigkeit der Exsudate von mit El Tor geimpften Meerschweinchen.

Die Exsudate wurden von mit Tor injizierten Tieren möglichst unmittelbar post mortem entnommen und scharf zentrifugiert. Der klare Abguß stellt das „Exsudatgift“ dar. Um bei den Versuchstieren Infektion durch die im Exsudat zurückgebliebenen lebenden El Tor-Vibrionen zu vermeiden (die bei deren kolossaler Virulenz sonst sicher eingetreten wäre), wurden die Exsudatgift Dosen mit 0,1 Serum eines Kaninchens versetzt, das einmal mit $\frac{1}{100}$ Oese Cholera 60° vorbehandelt war. (Die hier aufgeführten Versuche sind in den Protokollen der Tabelle III nochmals als Kontrollen aufgeführt.)

Versuchsreihe A.

Tiere von 200—210 g.

No. des Tieres	Menge des Exsudats	Erfolg	Temperaturen nach Stunden			
			1 $\frac{1}{4}$	3 $\frac{1}{2}$	8	20
831	0,5	lebt	37,5	38,6	—	36,7
832	1,0	†	33,1	30,3	†	†
833	1,5	†	31,5	29,4	†	†

Versuchsreihe B.

Tier von 150 g

No. des Tieres	Menge des Exsudats	Erfolg	Temperaturen				
			vorher	nach Stunden			
				1	3	15	20
953	1,0	† (spärlich Strept. und Stäbchen)	37,6	32,5	31,0 (Peritonem mikrosk. steril)	28,5	†

Versuchsreihe C.

Tier von 170 g

No. des Tieres	Menge des Exsudats	Erfolg	Temperaturen					
			vorher	nach Stunden				
				1	2	3	4	18
968	1,0	† (Peritoneum mikrosk. steril)	37,6	34,7	31,3	29,0	27,5	†

Was nun die Giftigkeit der El Tor-Exsudate anbetrifft, so liegt in der Regel die tödliche Dosis bei 1,0 ccm für Meerschweinchen von 200 g bei intraperitonealer Injektion, während kleinere Dosen von 0,5 g die Tiere nur vorübergehend krank machen.

Interessant sind die Resultate der Temperaturmessung.

Wir fanden eine außerordentlich rapide Einwirkung des El Tor-Giftes auf die Körperwärme. Schon 1 Stunde nach der Injektion waren Körpertemperaturen zu konstatieren von 33° und darunter. Der Tod erfolgte durchschnittlich nach 7—8 Stunden. Bei der Sektion zeigte sich das Peritoneum mit seröser Flüssigkeit erfüllt, die Därme intensiv gerötet. Stets fand sich bei Tieren, welche der Vergiftung mit diesen Exsudaten erlegen waren, der Inhalt des Peritoneums frei von Vibrionen, ein Beweis dafür, daß die beigegebene Dosis des bakteriziden Cholera-serums tatsächlich die spärlichen, im Exsudat ursprünglich vorhandenen Vibrionen prompt vernichtet hatte. Doch müssen wir hervorheben, daß nicht selten sowohl bei der Vergiftung der Tiere mit El Tor-Exsudaten als auch namentlich bei der Choleravergiftung, wie wir hier gleich vorwegnehmen wollen, Sekundärinfektionen im Peritoneum nachzuweisen sind, vorwiegend mit Streptokokken.

Man muß wohl annehmen, daß die letzteren aus dem Darmkanal stammen und unter dem Einfluß der starken Herabsetzung aller Lebensfunktionen infolge der Vergiftung durch die Darmwandungen hindurch in das Peritoneum eingewandert sind.

In der Regel zeigten sich diese Sekundärinfektionen erst in den späteren Stadien der Vergiftung kurz vor oder in der Agone, so daß die Vergiftungssymptome der ersten Stunden dadurch nicht beeinflusst sein konnten. Trotzdem haben wir derartige, nicht ganz einwandfreie Versuchsreihen aus den nachstehenden Protokollen ausgeschlossen.

Kraus beobachtete, daß dies akute Tor-Gift durch Temperaturen von 70° zerstört wurde.

Wir konnten in einem Versuche feststellen, daß schon Erwärmen auf 60° während 1 Stunde die akute Giftwirkung der Exsudate aufhob.

Tabelle II.

Versuch über die Wirkungen des auf 60° erhitzten Exsudats.

Exsudat analog wie Tabelle I. Ein Teil wird auf 60° erhitzt, ein anderer Teil unerhitzt auf seine Giftwirkung geprüft.

Tiere von 150 g

No. des Tieres	Menge des Exsudats	Erfolg	Temperaturen						
			vorher	nach Stunden					
				1 $\frac{1}{4}$	2	3	5	12	20
4	1,0 1 Stunde auf 60° erwärmt	lebt	38,0	36,4	37,7	36,8	34,1	31,8	
5	1,0 unerhitzt	† Peritoneum mikr. steril	38,2	35,4	30,0	29,5	30,6	25,0	†

Allerdings war auch bei dem erhitzten Exsudat eine gewisse spät auftretende Giftwirkung vorhanden, indem nach 5 Stunden die Temperatur auf 34° sank und innerhalb 12 Stunden bis $31,8^{\circ}$, um dann wieder anzusteigen.

Wir legen dieser verspäteten Giftwirkung eine gewisse Bedeutung bei, auf die wir noch später zu sprechen kommen.

Dies akut wirkende Tor-Toxin von Kraus wird nun tatsächlich, wie die folgende Tabelle zeigt, seinen Angaben entsprechend, durch El Tor-Serum (Lector und Kalif) neutralisiert, wenigstens insoweit, daß die Tiere am Leben bleiben.

Tabelle III.

Versuche über die Neutralisation der Tor-Exsudatgifte durch spezifische Sera.
Exsudatgift wie in Tabelle I und II. Die Giftdosis blieb mit dem Antiserum bei Zimmertemperatur eine Zeitlang — siehe Tabelle — in Kontakt, danach intraperitoneale Injektion.

Versuchsreihe A mit Lectorserum.

Tiere von 150 g

No. des Tieres	Menge des Exsudates	Menge des Antiserums	beide waren in Kontakt	Erfolg	Temp. vorher	Temperaturen nach Stunden							
						1	2	4	5	6	7	8	24
14	6 ccm	0,5	15 Min.	lebt	37,1	37,1	37,5	38,3	38,1	38,1	38,8	39,0	38,2
12	2 "	0,1	15 "	"	38,0	36,8	35,2	35,3	35,1	35,6	36,4	37,1	38,6
11	2 "	0,05	15 "	"	37,3	37,0	37,5	37,5	36,1	36,2	37,0	37,3	37,8
13	2 "	0,005	15 "	"	37,7	35,7	32,3	31,2	31,5	32,5	32,5	32,5	33,1
Kontrolltier: 5	1 "	—	—	+	38,2	35,4	30,0	30,6	30,6	20 Stunden	25,0, 20 Stunden	+	
				mikrosk. 0		(nach 12 Stunden Temp. 25,0, 20 Stunden +)							

Versuchsreihe B mit Lectorserum (LecS.) resp. Normalpferdeserum (NPFs.).

Tiere von 200 g

No. des Tieres	Menge des Exsudates	Menge des Antiserums	beide waren in Kontakt	Erfolg	Temp. vorher	Temperaturen nach Stunden						
						1	2	3	4 1/2	5 1/2	6 1/2	20
975	2,0 ccm	2,0 NPFs.	15 Min.	lebt	37,9	36,5	34,1	34,6	36,0	35,6	35,7	34,4
976	2,0 "	3,0 "	15 "	"	38,5	34,7	31,9	30,2	30,5	31,7	32,5	34,7
979	2,0 "	0,1 LecS.	15 "	"	37,5	38,3	38,4	37,2	36,7	36,5	37,0	37,6
Kontrolltier: 974	2,0 "	—	—	"	37,4	38,8	36,0	34,9	35,7	36,0	36,3	37,8

Versuchsreihe C mit Lectorserum und Cholera-Ziegenserum.
(Letzteres gewonnen durch lange Vorbehandlung mit lebenden Choloravibrationen bei intravenöser Injektion.)
Tiere von 200 g

No. des Tieres	Menge des Exsudats	Menge des Antiserums	Beide in Kontakt	Erfolg	Temp. vorher	Temperaturen nach Stunden							
						1	2	3	4 1/2	5 1/2	6 1/2	10	24
954	4,0 ccm	2,0 Lectorserum	15 Min.	lebt	38,5	38,0	37,7	36,5	36,2	35,0	34,6	34,5	35,5
955	2,0 "	2,0 "	15 "	"	37,9	38,3	37,8	36,4	36,3	35,8	35,8	36,5	37,8
956	2,0 "	1,0 "	15 "	"	38,0	38,7	39,4	38,2	38,0	37,3	37,5	37,8	38,6
957	2,0 "	2,0 Chol.-Zieg.-Ser.	15 "	"	37,5	39,0	39,7	38,3	36,6	36,0	37,0	37,4	37,7
958	2,0 "	1,0 "	15 "	tot	37,4	35,0	31,1	29,3	28,5	27,8	27,5	27,3	tot
				verfälschte plumpe Stäbchen									
Kontrolle 953	1,0 "	—	—	+ apfel. Strept. und Stäbchen	37,6	32,5	31,0					28,5	†

Versuchsreihe D mit Kalifserum und Cholera-Kaninchenserum.
(Durch einmalige Injektion kleiner Dosen [1/100 Oese] gewonnen.)
Tiere von 150 g

No. der Tiere	Menge des Exsudats	Menge des Antiserums	Beide waren in Kontakt	Erfolg	Temp. vorher	Temperaturen nach Stunden			
						1 1/4	2 1/4	3 1/4	15
793	4,5 ccm	1,0 Kalifserum	15 Min.	lebt	37,5	37,2	37,1	36,2	37,8
794	4,5 "	1,0 Chol.-Kan.-Ser.	15 "	+ mikrosk. 0	37,9	34,2	31,0	—	†

Versuchsreihe E mit Kalifserum, Cholerakaninchenserum (vgl. Versuchsreihe D). Tor-Kaninchenserum (einmalige intravenöse Injekt. v. 1/100 Oese 60° Vibr.) u. entsprechenden Normalseris.
Tiere von 200—210 g

No. des Tieres	Menge des Exsudats	Menge des Antiserums	Beide waren in Kontakt	Erfolg	Temp. vorher	Temperaturen nach Stunden							
						1 1/4	2	3 1/2	4 1/2	5 1/2	6 1/2	8	20
827	1,5 ccm	0,5 Kalifserum + 0,25 Norm.-Kan.-Ser.	30 Min.	lebt	38,3	37,2	35,1	35,4	36,1	36,9	37,0	37,3	
836	1,5 "	0,5 " + 0,25 "	30 "	"	37,7	37,4	36,1	34,9	34,0	34,2	35,3	35,7	37,3
829	1,5 "	0,5 Chol.-Kan.-Ser. + 0,25 N.-Kan.-Ser.	30 "	+ mikrosk. 0	37,7	34,5	33,7	31,2	31,4	31,8	32,2	31,5	35,6
830	1,5 "	0,5 Tor.-Kan.-Ser. + 0,25 N.-Kan.-Ser.	30 "	lebt	37,9	32,7	30,7	—	29,6	33,0	33,0	33,0	36,2
834	1,5 "	0,5 Chol.-Kan.-Ser. + 0,25 Kalifserum	30 "	+ nach 2 Tag.	38,1	37,3	36,2	34,7	33,8	34,5	35,0	37,8	37,1
835	1,5 "	0,5 Tor.-Kan.-Ser. + 0,1 Kalifserum	30 "	lebt	38,1	38,4	37,0	36,5	35,5	35,8	37,0	37,8	34,7
828	1,5 "	0,5 NPfs. + 0,25 Chol.-Kan.-Ser.	30 "	"	38,5	35,0	31,8	31,3	31,5	32,5	33,1	33,5	36,7
				"		37,5		38,6					+
Kontrolle 831	0,5 "	do.	—	†		33,1		30,3				+	+
832	1,0 "	do.	—	†		31,5		29,4				+	+
833	1,5 "	do.	—	†									+

Allerdings geht diese Neutralisation nicht in allen Fällen bis zur Wirkungslosigkeit des Giftgemisches, sondern es können auch bei erheblichen Mengen des El Tor-Serums verspätet auftretende Giftwirkungen sich zeigen, die ebenfalls darauf hindeuten, daß die Giftwirkung der Exsudatflüssigkeiten nicht als durchaus einheitlich aufzufassen sind.

Wir teilen zunächst einige Versuchsreihen mit, in denen die Antitoxinwirkung des Serums deutlich zutage tritt.

Wir sehen (Versuchsreihe A), daß die reichlich 2-fache tödliche Giftdosis durch eine Menge des Serums bis zu 5 mg herab noch deutlich beeinflußt wird, da das mit dem letzteren Gemisch injizierte Tier zwar eine schwere Vergiftung durchmachte, aber schließlich mit dem Leben davonkam. Ferner herrscht auch unverkennbar innerhalb der Versuchsgrenzen das Gesetz der Multipla insofern, als die 6-fach tödliche Dosis bei Zusatz von 0,5 Lectorserum glatt vertragen wurde (No. 14). Noch höhere Giftdosen wurden nicht ausprobiert, da sonst die Menge der dem Tier zu injizierenden Flüssigkeit zu beträchtlich geworden wäre. Dagegen zeigte sich in Versuchsreihe B das normale Pferdeserum selbst in der Dosis von 3 ccm unfähig, den Temperatursturz aufzuhalten, welcher nach Injektion einer, wie das Verhalten des Kontrolltieres beweist, nicht einmal einfach tödlichen Dosis des in diesem Falle wenig giftigen El Tor-Exsudates sich einstellte.

Aus den Versuchsreihen C, D und E derselben Tabelle geht des weiteren deutlich hervor, daß antitoxische Wirkungen gegenüber dem akuten El Tor-Gift ebensowenig dem normalen Kaninchenserum zukommen, wie bakterizid-hochwertigen Kaninchenimmunseris, welche durch einmalige intravenöse Injektion minimaler Mengen 60° Cholera- und El Tor-Vibrionen gewonnen wurden. Bis jetzt konnten wir also die Angaben von Kraus bestätigen. Nun aber müssen wir gewisse Abweichungen berühren, die schon früher angedeutet worden sind, die Kraus offenbar übersehen hat, da, wie es scheint, genauere Temperaturmessungen im Laufe der Vergiftung nicht vorgenommen worden sind.

Bei den echten Toxinen und Antitoxinen finden wir ein ganz genau quantitatives Verhältnis; die tödliche Dosis wird entweder neutralisiert oder nicht. Bei den Gemischen der Tor-Exsudate mit dem Tor-Serum liegen die Verhältnisse nicht so einfach. Hier werden auch bei einem vielfachen Multiplum der noch schützenden Minimaldosis Temperaturerniedrigungen beobachtet, die bis auf 34° gehen können, und auch von den deutlichsten sonstigen Intoxikationssymptomen (stärkster Prostration) begleitet sind, und die charakteristischerweise immer erst einige Stunden (5—6) nach der Injektion des Gemisches auftreten.

Wir sind geneigt, dies dahin zu deuten, daß in den Tor-Exsudaten zwei Gifte enthalten sind, von denen eines durch das Anti-Tor-Serum glatt neutralisiert wird, während die zweite Komponente nicht beeinflußt wird. Dieses zweite Toxin betrachten wir und werden dies weiter unten zu beweisen suchen als in der Exsudatflüssigkeit gelöstes durch Vibrionenzerfall freigewordenes Endotoxin.

Wie R. Pfeiffer bei der Cholera gezeigt hat, sind die durch vorsichtige Erhitzung resp. durch Chloroformdämpfe abgetöteten frischen Choleraagarkulturen von deutlich toxischer Wirkung. Die Dosis let. beträgt bei intraperitonealer Injektion für 200 g Meerschweinchen ca. 20 mg der frischen Agarkulturmasse.

Bei den El Tor-Vibrionen verhält sich nun die Giftigkeit genau eben-

so; frische, mit Chloroformdampf abgetötete El Tor-Vibrionen töten 200 g Meerschweinchen in der Dosis von 20 mg.

Es ist nun schon früher betont worden, daß auch normales Serum in größeren Dosen imstande ist, die Giftwirkung abgetöteter Bakterien bis zur 2—3-fach tödlichen Dosis anscheinend zu neutralisieren (cf. R. Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX, XXI). Wir führten oben aus, daß es sich hier nicht um eigentliche antitoxische Wirkung handeln dürfte, sondern wahrscheinlich um eine Erschwerung der Giftresorption durch das beigemengte Serum. Wir wissen ja, daß eine und dieselbe Dosis abgetöteter Bakterien um so stärker toxisch wirkt, je schneller sie resorbiert sind, daher die große Differenz des toxischen Effektes je nachdem dieselbe Dosis subkutan oder intraperitoneal oder intravenös gegeben wird.

Wenn wir daher den Einfluß des Tor-Serums auf die Vergiftung mit abgetöteten El Tor-Vibrionen prüfen wollten, so mußten wir stets Kontrollversuche anstellen mit den gleichen Dosen eines Serums, bei dem eine spezifische antitoxische Wirkung nicht vorauszusetzen war.

Zu diesen Kontrollen benutzten wir an Stelle des Serum normaler Tiere das Serum von Kaninchen, welche durch einmalige Vorbehandlung mit minimalen Mengen abgetöteter Cholerabakterien eine ausgesprochene bakterizide Immunität erhalten hatten, um auch die stark prononzierte bakterizide Quote des Krausschen El-Tor-Serums in den Kontrollen zu berücksichtigen.

Tabelle IV enthält 2 Versuchsreihen. In Reihe A wurde das Kraussche Kalifserum mit dem rein bakteriziden Cholerakaninchen-serum verglichen mit dem auffälligen Resultat, daß die beiden Kaliftiere deutlich ausgesprochene Vergiftungssymptome darboten, während die Kontrolltiere mit dem rein bakteriziden Serum beide ganz glatt die abgetöteten El Tor-Vibrionen vertrugen fast ohne toxischen Effekt.

Ganz ähnlich verliefen die Versuche der Reihe B. Hier wurde die etwa doppelt tödliche Dosis der abgetöteten El Tor-Vibrionen verabfolgt. Auch hier kamen die mit Kalifserum behandelten Tiere mit dem Leben davon, allerdings alle drei nach ausgesprochenen Vergiftungserscheinungen. Man hätte hier an einen antitoxischen Effekt des El Tor-Serums denken können, aber diese Auffassung wird unmöglich durch das Verhalten der Kontrolltiere, welche mit einem Gemisch von normalem Pferdeserum und bakterizidem Cholerakaninchen-serum behandelt wurden. Auch die letzteren Meerschweinchen blieben am Leben und ihr Temperaturverlauf unterschied sich in keinem Punkt von dem der El Tor-Tiere. Bemerkenswert ist, daß die Kontrolltiere mit normalem Pferdeserum der Vergiftung erlagen. Es entspricht dies durchaus den früheren Publikationen von R. Pfeiffer, der ebenfalls regelmäßig, wie schon mehrfach erwähnt, einen gewissen Unterschied zugunsten der mit Immunserum behandelten Tiere feststellen konnte gegenüber dem Effekt der entsprechenden Dosen des Normalserums.

Ganz ähnlich verliefen zwei Versuchsreihen, in denen als Gift mit Chloroformdämpfen sterilisierte frische El Tor-Agarkulturen Verwendung fanden (Tab. V).

Auch hier (Reihe A) war eine stärker antitoxische Wirkung des Kalifserums, verglichen mit dem bakteriziden Choleraserum, absolut nicht vorhanden.

Reihe B dieser Tabelle vergleicht die antiendotoxische Funktion des Kraus-Serums mit dem des normalen Pferdeserums bei Injektion nur wenig größerer Dosen der abgetöteten El Tor-Vibrionen. Jetzt sterben

Tabelle IV.

Versuche über die Neutralisation des in den bei 60° abgetöteten El Tor-Bakterien enthaltenen Giftes durch spezifisches Serum.

Versuchsreihe A.

Als Gift wurden abgewogene und 1 1/2 Stunden bei 60° in physiologischer Kochsalzlösung abgetötete Tor-Vibrien benutzt. Tiere von 200 g.

No. des Tieres	Menge des Giftes	Menge des Antiserums	Beide waren in Kontakt	Erfolg	Temp. vorher	Temperaturen nach Stunden						
						1	2	3	4	16		
819	30 mg	1,0 Kalifserum	30 Min.	lebt	37,9	39,4	37,7	36,4	35,5	35,7		
822	50 "	1,0 "	30 "	"	38,2	39,4	38,6	36,1	34,5	34,4		
820	50 "	1,0 Chol.-Kan.-Serum	30 "	"	39,0	40,2	39,5	38,0	37,1	38,1		
821	30 "	1,0 "	30 "	"	38,7	40,6	39,9	38,7	37,8	37,0	nach 3 Tagen noch lebend und munter	

Versuchsreihe B.

Gift wie Versuchsreihe A; nur wurden die Bakterien bei 56° statt 60° 1 1/2 Stunden abgetötet. Neues Kalifserum vom Dezember 1907.

No. des Tieres	Menge der Bakterien	Menge des Antiserums	Beide waren in Kontakt	Erfolg	Temp. vorher	Temperaturen nach Stunden						
						1	2	3	5	7	9	11
220	45 mg	1,0 Kalifserum	30 Min.	lebt	37,7	38,1	37,5	36,0	35,2	37,7	33,1	34,1
221	45 "	0,5 "	30 "	"	38,4	37,5	38,1	37,8	36,5	35,5	35,3	35,2
222	45 "	0,2 "	30 "	"	38,0	38,1	37,8	37,6	36,6	35,3	34,9	34,5
223	45 "	1,0 NPIS.	30 "	+	38,1	37,7	37,4	35,6	35,3	32,9	31,0	31,4
224	45 "	0,5 NPIS.	30 "	+	37,6	37,4	36,6	36,2	34,1	31,8	31,2	32,7
225	45 "	0,2 NPIS.	30 "	+	38,4	38,5	38,3	37,7	35,7	34,0	+	33,0
226	45 "	1,0 NPIS. + 1,0 Chol.-Kan.-Serum	30 "	lebt	38,1	37,3	37,8	35,9	37,4	36,0	34,6	35,9
227	45 "	0,5 NPIS. + 0,5 Chol.-Kan.-Serum	30 "	"	38,5	38,6	38,4	37,6	38,0	37,3	36,7	34,9
228	45 "	0,2 NPIS. + 0,2 Chol.-Kan.-Serum	30 "	"	38,5	38,5	38,7	38,0	35,7	33,9	33,9	35,6
Kontrolltiere:												
215	30 "			+	37,6	39,4	38,5	36,7	35,1			+
216	40 "			+	37,5	38,3	38,8	37,3	36,3			29,6

Tabelle V.

Versuche über die Neutralisation des in den durch Chloroform abgetöteten El Tor-Bakterien enthaltenen Giftes durch spezifisches Serum.
Zur Abtötung wurden abgewogene Bakterien in Kochsalzlösung aufgeschwemmt 15—20 Min. bei 37° Chloroformdämpfen ausgesetzt. Nach Verdunstung des Chloroforms wurde das stets sterile Gift mit Immuneserum versetzt und interperitoneal injiziert.
Versuchsreihe A mit Kalifaserum (v. 16. Juli 1907) und Cholerakaninchen serum (einmalige intravenöse Injektion von $\frac{1}{100}$ Oese 60° Chol.).

No. des Tieres	Dosis des Giftes	Dosis des Antiserums	beide in Kontakt	Erfolg	Temp. vorher	Temperaturen nach Stunden							
						1 1/2	2 1/4	4	5	6 1/2	7 1/2	8 1/2	20
867	50 mg	1,0 Kalifaserum	15 Min. bei 15°	lebt	37,9	38,3	37,4	36,0	35,0	34,5	34,6	33,9	37,7
868	30 "	1,0 "	15 " "	"	38,2	39,4	38,0	37,4	37,1	37,2	37,8	37,8	38,5
869	50 "	1,0 Chol.-Kan.-Serum	15 " "	"	37,6	39,5	38,5	37,4	36,2	35,1	35,3	35,4	37,4
870	30 "	1,0 "	15 " "	"	37,7	38,9	38,1	36,3	35,5	34,6	36,2	36,5	37,5

Versuchsreihe B.
Tiere von 150 g.

No. des Tieres	Dosis des Giftes	Dosis des Antiserums	beide in Kontakt	Erfolg	Temp. vorher	Temperaturen nach Stunden							
						2	3 1/4	5	7	9	11	24	48
157	50 mg	0,1 Kalifaserum	15 Min.	+ + + + + + + + + + mikroskopisch steriles Peritoneum	37,3	39,0	35,5	31,3	29,5	30,5	32,0	33,5	+
158	50 "	0,2 "	15 "		37,8	38,6	36,9	33,0	30,2	28,5	28,4	+	+
159	50 "	0,5 "	15 "		37,7	39,1	35,3	30,5	28,9	38,6	31,9	32,8	+
160	50 "	1,0 "	15 "		37,5	37,8	36,0	32,5	30,7	30,2	30,5	29,6	+
161	50 "	0,1 NPFS.	15 "		38,2	35,5	35,4	34,4	32,7	31,8	31,0	+	+
162	50 "	0,2 "	15 "		37,7	35,7	36,5	35,0	34,2	33,5	33,5	+	+
163	50 "	0,5 "	15 "		37,8	32,9	30,5	30,3	30,7	29,8	29,2	+	+
164	50 "	1,0 "	15 "		37,7	36,2	34,6	32,0	31,3	31,0	31,5	+	+
Kontrolltiere:													
165	50 "	—	—	+	37,7	31,0	28,7	29,4	30,2	30,2	26,1	+	+
166	50 "	—	—	+	37,9	32,6	29,6	27,3	27,0	27,0	25,6	+	+

Tabelle VI.

Einfluß der spezifischen Sera gegenüber Vergiftung mit größerer Menge lebender Kultur von Tor.

Versuchsreihe A.

686 Meerschwein, 200 g, erhält 2 Oseen Tor-Vibrien + 0,1 Kaliserum gemischt intraperitoneal.

Nach 1 1/2 Stunden nur noch reichlich Granula.

Nach 18 Stunden abgelaufen, aber noch vereinzelte Vibrien im gefärbten Präparat.

Nach 48 Stunden Tier tot, mikroskopisch 0.

Temperaturen: vorher 1 1/2 Std. 3 Std. 5 Std. 18 Std. 38 Std.

37,3 40,0 37,8 34,0 32,7 +

Versuchsreihe B.

Tiere von 200 g.

No. des Tieres	Dosis des Virus	1/2 Std. vorher bei 15° bel. mit	Ablauf der Infektion	Erfolg	Temp. vorher	Temperaturen nach Stunden			
						1 1/2	3	5	24
707	3 Oseen Tor-Vibrien	0,3 Kaliserum	nach 3 Std. noch nicht ganz abgelaufen, nach 6 Std. abgelaufen	+ Kulturell: Herzbl. 0 Perit. Vibrien spärlich	38,1	38,8	35,0	32,1	+
707	do.	0,3 Chol.-Zieg.-Serum		+ Herzblut 0 Perit. Vibr. etwas mehr	38,8	32,8	29,5	28,0	+

Versuchsreihe C.

Tiere von 180 g.

No. des Tieres	Dosis des Virus	10 Min. vorher bei 15° bel. mit	Ablauf der Infektion	Erfolg	Temp. vorher	Temperaturen nach Stunden							
						1	3	4	5 1/2	6 1/2	7 1/2	8 1/2	20
804	10 mg Tor-V.	0,5 Kaliserum	rasche Bakterizid.; nach 6 Std. wuchs auf Platte aus 1 Osee Exsudat: 230 Kolonien	+ Herzblut Perit. steril	38,1	34,0	36,2	34,2	32,1	31,0	30,7	30,0	+
805	do.	1,0				38,4	34,1	32,2	30,7	39,8	29,8	28,9	+
806	do.	0,5 Chol.-Kan.-Ser.				38,1	36,3	31,7	30,5	28,5	27,3	27,0	+
807	do.	1,0				38,0	35,0	27,5	26,8	24,8	24,5	24,1	+
		"											

Versuchsreihe D.
Je 3 Oseen Tor-Vibrien während 5 1/2 Stunden bei Zimmertemperatur beladen mit 0,3 Kalif.- resp. Ziegenserum. Danach intraperitoneale
Injektion der Bodensätze.
Tiere von 200 g.

No. des Tieres	Bodensatz beladen mit	Verlauf der Infektion	Erfolg	Temp. vorher	Temperaturen nach Stunden				
					1 1/2	3	5	12	24
707	Kaliserum	nach 3 Std. noch nicht völlig abgelaufen, nach 7 Std. mikroskop. abgelaufen	+ Blut 0 Perit. spärliche Keime	38,1	38,8	35,0	32,1	+	
708	Chol.-Zieg.-Serum		+ Blut 0 Perit. spärliche Keime	38,3	32,8	29,5	28,0	+	

sämtliche Tiere, gleichgültig welche Dosis des Kalifserums gegeben wird, mit typischen Vergiftungserscheinungen.

Diese Versuche zeigen auf das überzeugendste, daß entgegen den Krausschen Behauptungen sein antitoxisches Kalifserum gegenüber den echten Endotoxinen der El Tor-Vibrionen absolut versagt, und daß von einer wahren Neutralisierung des Giftes nicht die Rede sein kann.

Als besonders bedeutungsvoll betrachten wir aber die folgenden Versuche, in denen die Wirkung des Krausschen Serums gegenüber den Vergiftungen mit größeren Mengen lebender Kultur geprüft wurde, da hier das Endotoxin in völlig nativem Zustande, ohne jede Veränderung durch chemische oder physikalische Agentien in Aktion tritt (Tab. VI).

Es wurde in diesen Versuchen die entsprechende Dosis der lebenden Tor-Kulturen mit dem Serum gemischt intraperitoneal injiziert. Die direkte mikroskopische Untersuchung des Peritonealinhaltes bei den Versuchstieren ergab, daß in allen Fällen eine rapide Auflösung der Vibrionen stattfand, so daß schon nach 1 Stunde mikroskopisch nur noch Granula zu sehen waren; in einigen Versuchen wurde auch die Menge der Bakterien durch das Plattenverfahren festgestellt, welche 6 Stunden nach der Infektion in einem großen Tropfen der Exsudate enthalten waren. Daß ein fortschreitender Infektionsprozeß nicht vorlag, geht auch aus dem kulturell negativen Ergebnis, welches bei der Obduktion der Tiere erhoben wurde, deutlich hervor. Es wurden hierbei nur ganz vereinzelte Vibrionen gefunden. Dies, sowie die kulturell so gut wie negativen Ergebnisse des Blutes und des Peritonealexsudates bei den frisch verstorbenen Tieren beweist schlagend, daß die betreffenden Meerschweinchen nicht einer fortschreitenden Infektion, sondern einer echten Endotoxinvergiftung erlegen sind.

In diesen Versuchen vermochte selbst 1 ccm des Krausschen Serums, also mindestens ein 200-faches Multiplum der die einfach tödliche Dosis des löslichen El Tor-Toxins neutralisierenden Serumquantität, nicht die Vergiftung zu inhibieren. Die Kraus-Tiere gingen ebenso schnell und unter demselben Symptomenkomplex zu Grunde, wie die Kontrolltiere, welche entsprechende Mengen von Cholerakaninchen Serum erhalten hatten.

Nur eine wichtige Differenz trat hervor; die mit Krausschem Serum behandelten Tiere zeigten den Temperatursturz erst nach 3 bis 4 Stunden, während die Kontrolltiere schon nach 1 Stunde schwer vergiftet waren. Es läßt sich das so erklären, daß ebenso wie in den Exsudaten auch in den lebenden Bakterien 2 Gifte vorhanden sind, das akut wirkende Toxin, welches durch das Kraus-Serum neutralisiert wird und das eigentliche Endotoxin, auf welches das Kraussche Serum keinen anderen Einfluß hat, wie das rein bakterizide Cholerakaninchen-Serum.

Heilversuche.

Von besonderer Wichtigkeit war die experimentelle Prüfung der Frage, wie sich das antitoxische Kraus-Serum bei der El Tor-Infektion verhalten würde, verglichen mit einem rein bakteriziden Serum. Man mußte erwarten, daß es mit dem ersteren Serum gelingen würde, die Tiere noch in einem Stadium zu retten, in dem die bakterizide Wirkung allein dazu nicht mehr ausreicht. Es muß hier hervorgehoben werden, daß auch das Kraussche antitoxische Serum einen reichen Gehalt an Vibriolysinen besitzt. Der Titer des hauptsächlich benutzten Kalifserums betrug gegen Cholera ausgewertet 0,2 mg.

Unser Kaninchenkontrollserum hatte annähernd denselben bakteriziden Wert, so daß die Verhältnisse für eine vergleichende Beurteilung diesen beiden Sera in bezug auf ihren therapeutischen Effekt möglichst günstig lagen.

Wir benutzten als Versuchstiere Meerschweinchen; allerdings hatte Kraus diese Tiere wegen ihrer hohen Empfänglichkeit für das Cholera-gift für ungeeignet erklärt und behauptet, daß eine Heilung nach ausgebrochener Infektion bei ihnen deshalb überhaupt unmöglich sei.

Trotzdem haben wir den Vorteil eines quantitativ genauen Arbeitens, der durch die Wahl dieser Tierspecies gewährleistet wird, für zu wichtig erachtet, zumal wir uns bald überzeugen konnten, daß die El Tor-Infektion der Meerschweinchen, trotz ihres rapiden Verlaufs, sich leicht unter gewissen Bedingungen durch Serumwirkung in therapeutischem Sinne beeinflussen läßt.

Die Zahl unserer Versuche ist eine sehr große. Sie sind in der folgenden Tabelle (p. 112, 113, 114 u. 115) zusammengestellt.

Tabelle VII.

Heilversuche gegenüber der Intrapéritonealinfektion des Meerschweinchens mit Tor-Vibriionen.

Die Meerschweinchen wurden mit den in den einzelnen Teilen der Tabelle angegebenen Dosen intrapéritoneal geimpft. Danach wurde das auf seinen Heilwert zu prüfende Serum in den in der Tabelle verzeichneten Zeitintervallen nachgespritzt.

Versuchsreihe A.

Tiere von 200 g.

No. des Tieres	Dosis des Virus	Serummenge	gegeben nach Stunden	Erfolg	Ablauf der Infektion	Temperaturen				
						vorher	nach Stunden			
							2	5	8	32
679	$\frac{1}{5}$ Oese Tor-V.	0,1 Kalifserum	$1\frac{1}{2}$	+	in Glatter Ablauf in 1–2 Stunden. Vor der Serum-injektion sehr viel Vibriionen	37,7	32,5	25,0	+	+
680	do.	0,1 Chol.-Zieg.-Ser.	$1\frac{1}{2}$	+		37,2	32,0	28,5		
681	do.	0,25 Kalifserum	$2\frac{1}{2}$	+		37,9	33,3	26,2	+	
682	do.	0,25 Chol.-Zieg.-Ser.	$2\frac{1}{2}$	+		37,7	32,7	+		
683	do.	—	—	+		38,5	32,5	+		
684	do.	—	—	+		37,7	32,5	+		
685	$\frac{1}{6}$ Oese	—	—	+		38,3	32,3	+		
Versuchsreihe B.										
692	$\frac{1}{10}$ Oese Tor-V.	0,2 Kalifserum	2	+	Vor der Seruminjektion viel Bakterien. Glatter Ablauf in 1 Stunde, mikroskop. nur noch Granula					
693	do.	0,2 Chol.-Zieg.-Ser.	2	+			35,2	28,8	+	
694	do.	0,3 Kalifserum	3	+			35,1	29,6	+	
695	do.	0,3 Chol.-Zieg.-Ser.	3	+			34,0	25,9	+	
696	do.	0,5 Kalifserum	4	+			34,4	27,1	+	
697	do.	0,5 Chol.-Zieg.-Ser.	4	+			36,5	28,1	+	
698	do.	0,6 Kalifserum	5	+			35,3	28,7	+	
699	do.	0,6 Chol.-Zieg.-Ser.	5	+			34,5	29,8	+	
700	do.	—	—	+			33,7	28,0	+	
							+ Vibriionen im Periton. und Herzblut			

Aus dieser Tabelle ergibt sich zunächst folgendes.

Bei relativ großen Dosen bis $\frac{1}{10}$ Oese war selbst schon nach $1\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden tatsächlich eine Heilung der mit El Tor infizierten Meerschweinchen nicht mehr zu erzielen, gleichgültig, ob Kraus-Serum oder das bakterizide Kaninchenserum verwendet wurde. Der Effekt war in

Beziehung auf die Bakterienzerstörung stets ein ausgezeichneter. Aber die Tiere erlagen, wie das Kraus ganz richtig beobachtet hat, der Wirkung des akuten Toxins. Wir mußten mit der Infektionsdosis erheblich heruntergehen, um deutliche Heilresultate zu erhalten. Da aber gelang es uns bei $\frac{1}{50}$ Oese noch nach 2 Stunden, bei $\frac{1}{300}$ Oese noch nach 3, ja sogar nach 4 Stunden, die Versuchstiere zu retten, sowohl mit dem Krausschen antitoxischen Serum wie mit unserem bakteriziden Kaninchenserum in völlig gleicher Art und Weise, wie genaue Temperaturmessungen ergaben.

Versuchsreihe C.

No. des Tieres Gewicht in g	Dosis des Virus	Serummenge	Gegeben nach Stunden	Erfolg	Verlauf der Infektion	Temperatur nach Stunden				
						2	4 $\frac{1}{2}$	7 $\frac{1}{2}$	9 $\frac{1}{2}$	24
719 250	$\frac{1}{50}$ Oese Tor-V.	0,1 Kalif- serum	1	lebt	Glatter Ablauf der Infektion in (rasche und vollständige Bakterizidie)	38,5	38,0	38,3	38,4	37,3
720 200	do.	0,1 Chol.- Zieg.-Serum	1	"		37,4	37,6	38,1	37,8	
717 230	do.	0,2 Kalif- serum	2	"		35,4	35,0	35,5	35,9	37,5
718 200	do.	0,2 Chol.- Zieg.-Serum	2	"		35,2	31,2	33,3	34,3	38,0
715 250	do.	0,3 Kalif- serum	3	+ Herzbl. u. Perit. mikr. steril		34,5	28,6	27,5	27,1	+
716 230	do.	0,3 Chol.- Zieg.-Serum	3	+ Herzbl. mikr. 0; Perit. vereinzelt Bakterien.		35,3	28,3	+		
714 250	do.	0,5 Kalif- serum	4	+ mikr. 0		33,8	27,1	24,1	23,1	+
710 250	do.	0,5 Chol.- Zieg.-Serum	4	+ Herzbl. u. Perit. mikr. 0		34,8	28,2	26,3	25,0	+
709 250	do.	—	—	+	2 Stunden	35,7	25,2	+		

Versuchsreihe D.

						2	3	4	6	18
724 180	$\frac{1}{50}$ Oese Tor-V.	0,1 Kalif- serum	2 Std. 20 Min.	+ Herbl. 0; Perit. 0	nach 2 Stunden abgelaufen	37,1	31,8	28,0	26,4	+
725 180	do.	0,1 Chol.- Kan.-Serum	2 " 20 "	+ nach 2 Tagen. Herzbl. 0; Perit. 0		35,0	31,5	29,5	29,0	30,0
726 200	do.	0,2 Kalif- serum	2 " 20 "	+ Peritoneal Bakt. Herzbl. vereinzelt	nach 2 Stunden zieml. viel Bakterien	35,5	33,8	30,2	27,5	+
727 200	do.	0,2 Chol.- Kan.-Serum	2 " 20 "	do.		36,6	32,5	30,8	28,2	+
728 250	do.	—	—	+	fortschreitende Bakterien- zunahme	38,0	35,0	32,3	28,2	+
729 250	do.	—	—	+		34,5	33,6	32,0	30,0	+

Eine Ueberlegenheit des antitoxischen Serums trat auch nicht einmal andeutungsweise hervor.

Man werfe einen Blick auf die Versuchsreihe D, hier starb das 2 Stunden 20 Min. nach der Infektion mit Kalifserum behandelte Meerschweinchen, nach 18 Stunden, das mit rein bakterizidem Kaninchenscholeraserum behandelte Tier ging erst 48 Stunden nach der Infektion zugrunde. Scheinbar günstiger für das Kraus-Serum war die Versuchsreihe F. Hier starb ein 4 Stunden nach der Infektion mit Cholera-kaninchenserum behandeltes Meerschweinchen, während das entsprechende

Versuchsreihe F.
Tiere von 200 g.

Digitized by Google

Versuchsreihe G.

No. des Tieres	Dosis des Virus	Serummenge	Gegeben nach Stunden	Erfolg	Verlauf der Infektion	Temperaturen nach Stunden							
						3	4	5	6	7	8 1/2	20	
24	1/300 Oese El Tor-V.	0,5 Lectorserum	3	lebt	Glatter Ablauf der Infektion in 1-2 Stunden	38,0	35,9	35,6	34,4	36,4	36,5	37,6	
25	do.	0,5 Chol.-Kan.-Serum	3	„		38,1	35,4	34,0	35,0	35,1	35,4	38,1	
31	do.	0,5 Lectorserum	4	+ Herz 0 Keime ¹⁾ , Perit. 0 Keime		38,8	35,5	31,3	28,4	27,5	+		
32	do.	0,5 Chol.-Kan.-Serum	4	+ Herz 0, Perit. 1 Keim		38,1	35,4	32,5	30,8	29,5	27,6	+	
28	do.	0,5 Lectorserum	5	+ Herz 2, Perit. 50		38,7	36,1	31,5	28,8	+			
29	do.	0,5 Chol.-Kan.-Serum	5	+ Herz 0, Perit. 50		36,6	35,5	31,7	29,5	28,3	27,5	+	
26	do.	0,5 Lectorserum	6	+ Perit. 20, Herz 0		39,0	37,3	32,5	28,3	+			
30	do.	0,5 Chol.-Kan.-Serum	6	+ Perit. 30, Herz sehr vereinz. Keime		39,5	36,5	30,0	36,6	25,0	+		

Kaliftier ohne wesentliche Vergiftungssymptome überstand; aber dieser günstige Eindruck wird sofort verwischt durch die beiden folgenden Tiere No. 772 und 774. Hier war bei der therapeutischen Seruminjektion nach $5\frac{3}{4}$ -ständiger Infektionsdauer wieder das Kontrolltier im Vorteil. Man muß eben die individuelle Empfindlichkeit des Tieres berücksichtigen und kann deswegen bindende Schlüsse nur aus größeren Versuchsreihen ziehen.

Besonders deutlich zeigt noch die letzte Versuchsreihe G, daß ein höherer therapeutischer Effekt dem antitoxisch bakteriziden Serum gegenüber dem rein bakteriziden nicht zukommt.

Wir kommen zu dem Ergebnis, daß für Heilversuche wesentlich die bakteriziden Substanzen ausschlaggebend sind im Gegensatz zu Kraus, der unserer Ueberzeugung nach viel zu einseitig die Bedeutung der antitoxischen Serumfunktion betont.

Interessant ist auch das Verhalten der Kontrollen in Versuchsreihe E. Hier war noch 8 Stunden nach Beginn der Infektion bei 2 Tieren die Temperatur normal, während die Serumtiere schon nach 3 und mehr noch nach $5\frac{1}{2}$ Stunden starken Temperatursturz aufweisen, was einer typischen Endotoxinvergiftung entspricht.

Versuche mit antitoxischem El Tor-Serum bei Cholera.

Wir haben schon früher darauf hingewiesen, daß bei der Cholerainfektion unserer Versuchstiere derartig rasch auftretende Giftwirkungen, wie sie in so auffälliger Weise bei der El Tor-Infektion sich bemerkbar machen, fehlen.

Wir dürfen daraus schließen, daß die Choleravibrionen unfähig sind, ein ähnliches akut wirkendes Toxin zu liefern, wie es bei den El Tor-Vibrionen leicht sich nachweisen läßt. Wir befinden uns auch in dieser Hinsicht in erfreulicher Uebereinstimmung mit Kraus und Russ.

Was nun die Choleragifte anbetrifft, so ist ja seit langem bekannt, daß in Bouillonkulturen toxische Substanzen sich finden können, und dies ist, was wohl Kraus entgangen sein dürfte, schon 1895 von R. Pfeiffer (vergl. seine mehrfach zitierte Arbeit) für unzweifelhafte jeder

1) Die Zahlen beziehen sich auf die Menge der Keime in 1 Oese.

Kritik gegenüber stichhaltige Cholerakulturen festgestellt worden. Nur bestehen noch Differenzen bezüglich der Wertung dieser Gifte.

Wir betrachten sie als autolytische Produkte und müssen die Auffassung von Kraus und Russ als einseitig bezeichnen, die sich dahin äußern: „Ein sicherer Beweis dafür, ob die löslichen Dysenterietoxine, Choleratoxine sezerniert sein dürften, oder durch Zerfall der Bakterienleiber frei in Lösung übergehen, liegt bisher nicht vor. Unserer Meinung nach ist diese Frage sekundärer Natur; prinzipiell wichtig erscheint uns vielmehr, ob diese löslichen Gifte als Toxine aufgefaßt werden dürfen.“

Nicht darauf kommt es an, ob irgendwelche unter künstlichen Versuchsbedingungen in vitro erzeugte Gifte als Antigene wirken, sondern darauf, ob diese Gifte beim natürlichen Infektionsverlauf eine Rolle spielen. Diesen Beweis hat Kraus bisher nicht geliefert. Wir wollen jedoch eine eingehende Kritik der Krausschen Arbeit an dieser Stelle nicht geben, sondern beschränken uns darauf, unsere eigenen Versuchsergebnisse anzuführen, indem wir die Schlußfolgerungen dem Leser überlassen.

Die folgenden Fragen haben wir experimentell geprüft.

1) Wie wirkt das Kraussche antitoxische Serum auf die Cholerainfektion der Meerschweinchen?

2) Wie wirkt es auf die giftigen Substanzen in den Exsudaten der gestorbenen Tiere und auf die Endotoxine?

ad 1. Kraus und Russ behaupten in ihrer Arbeit, es sei R. Pfeiffer nicht gelungen, cholerainfizierte Meerschweinchen kurze Zeit nach der Infektion mit seinem Serum zu heilen.

Es ist uns unerfindlich, wie Kraus und Russ zu dieser Auffassung gekommen sind. Hätten sie die älteren Arbeiten Pfeiffers genauer verfolgt, so würden sie sich überzeugt haben, daß tatsächlich Protokolle mitgeteilt sind, in denen selbst nach Infektion mit dem mehrfachen Multiplum der tödlichen Dosis ($\frac{1}{3}$ Oese) durch bakterizides Serum noch nach 3 Stunden Heilung erzielt wurde.

Es kommt eben alles darauf an, wie rasch durch die Vermehrung der Vibrionen im Körper des Tieres die letale Menge der endotoxisch wirkenden Bakteriensubstanz gebildet wird. Erst von diesem Augenblick an erliegen die Meerschweinchen, auch wenn die Infektion selbst durch die Vibrionenauflösung glatt abgeschnitten wird.

Der Einwand von Kraus und Russ, daß die Meerschweinchen gegen Choleragift zu empfindlich wären, und daß deshalb eine Heilung nicht erreichbar sei, erscheint uns als unberechtigt, wenn wir das relativ zögernde Auftreten der Choleraintoxikation, deren erste Symptome sich i. R. erst nach 4–5 Stunden bemerkbar machen (ganz im Gegensatz zur El Tor-Infektion), berücksichtigen.

Auch dürfen wir nicht vergessen, daß die Cholera eben eine Menschenkrankheit ist, auf deren Heilung unsere Arbeiten doch schließlich hinzielen. Nun spricht alles, was wir wissen, durchaus dafür, daß der Mensch für Choleragift mindestens so empfindlich ist wie das Meerschweinchen. Es ist schwer zu begreifen, daß Kraus ein Antitoxin, welches beim Meerschweinchen in seinen Versuchen völlig versagte, für geeignet betrachtet, beim kranken Menschen zu therapeutischen Zwecken verwendet zu werden. Wir halten es infolgedessen für einen methodologischen Fehler, wenn er als Prüfungsobjekt für seine Antitoxine die Mäuse wählt, eine Tierspecies, welche, wie sich leicht feststellen läßt,

für die Cholerainfektion und die Choleravergiftung fast ganz unempfindlich ist.

Wir geben zunächst eine tabellarische Zusammenstellung unserer Choleraheilversuche (s. Tab. VIII).

Diese Versuche ergeben zur Evidenz, daß die Heilung bei Verwendung kleiner Infektionsdosen der Choleravibrionen nach 2, 3 und sogar 4 Stunden noch möglich ist, während die Kontrolltiere etwa in 12 Stunden dem Tode verfallen sind.

Des weiteren sehen wir, daß das antitoxische El Tor-Serum keinerlei Vorzüge besitzt gegenüber dem bei den Kontrollversuchen benutzten Choleraziogen- und Cholerakaninchenserum. Die Versuche der Reihe A waren an sich nicht völlig eindeutig, da das hier zur Kontrolle benutzte Choleraziogen Serum durch lange Vorbehandlung dieser Tiere mit intravenösen Injektionen lebender Choleravibrionen hergestellt war und deshalb möglicherweise nebenbei auch antitoxisch wirken konnte. Dagegen ist dieser Einwand kaum zu erheben gegen die unter B angeführten Versuche, in denen antitoxisches Lectorserum mit Cholerakaninchenserum (durch einmalige Vorbehandlung mit $\frac{1}{100}$ Oese 60° Cholera erzeugt) verglichen wurde.

Die Infektionsdosis betrug hier $\frac{1}{8}$ Oese; nach 2, 3 und 4 Stunden wurden steigende Mengen des Serums injiziert. Im Moment der therapeutischen Serumeinspritzung, selbst noch 4 Stunden nach Beginn der Infektion war die Temperatur entweder noch normal oder fieberhaft erhöht; dem entsprechend waren die Tiere munter und zeigten nichts von der so charakteristischen Muskelschlaffheit der Choleraintoxikation. In jedem Falle führte die Serumeinverleibung zu rapider und vollständiger Zerstörung der zahlreichen im Peritoneum vorhandenen Vibrionen. Die Infektion wurde also durch beide Serumarten ganz gleichmäßig und vollständig unterbrochen. Trotzdem konnte das Auftreten der Vergiftung in keinem Falle verhindert werden. Wir finden sogar die bemerkenswerte Tatsache, die auch bei anderen Versuchen immer wieder in Erscheinung trat, daß die mit Lectorserum behandelten Tiere so gut wie regelmäßig eine schwerere Vergiftung durchzumachen hatten und stärker und rascher eintretende Temperaturerniedrigung zeigten als die Kontrolltiere mit Cholerakaninchenserum.

Es steht das direkt im Gegensatz zu der Angabe von Kraus, der das El Tor-Antitoxin gegenüber der Choleravergiftung als hoch wirksam bezeichnet.

Wir wollen nicht so weit gehen zu behaupten, daß in dem von uns benutzten Cholerakaninchenserum Antitoxine gegen das Choleragift enthalten seien, obwohl ein sehr optimistischer Forscher daran denken könnte; wir nehmen an, daß die Verhältnisse hier viel komplizierter liegen, und daß der Begriff Antitoxin im Sinne von Ehrlich diesen Tatsachen gegenüber nicht anwendbar ist.

Eins ist jedoch sicher; das El Tor-Antitoxin von Kraus hat keinerlei heilende Wirkung gegenüber der im Verlauf der Cholerainfektion der Meerschweinchen zustande kommenden Vergiftung.

Kraus und Russ sind daher keineswegs berechtigt zu der Auffassung (S.-A. p. 45), daß „die experimentell gesetzte Cholerainfektion eine Toxikose sein muß, da der Heileffekt eines Serums nur von dessen antitoxischen Eigenschaften, nicht von dessen bakteriolytischen abhängig ist“. Gerade das Gegenteil müssen wir aus unseren Versuchen folgern.

Tabelle VIII.
Heilverseuche gegenüber der Intrapertonealinfection mit Cholera vibrionen.
Versuchsreihe A mit Kalbfserum und Cholera ziegenserum.
Tiere von 200 g

No. des Tieres	Dosis des Virus	Serummenge	gegeben nach Stunden	Erfolg	Ablauf der Infektion	Temperaturen der Stunden				
						vorher	4	7	9	22
671	1/6 Oese Cholera	0,1 Kalbfserum	3	+	Vor der Injektion des Serums viel Bak- terien. Nach 1 Std. nur Granula. Nach 2—4 Std. völlig ab- gelaufen.	37,7	36,5	33,5	30,9	+
672	"	0,1 Chol.-Zieg.-Ser.	3	+		37,3	34,3	33,0	30,6	+
673	"	0,2 Kalbfserum	4	+		38,0	37,9	33,2	31,0	+
674	"	0,2 Chol.-Zieg.-Ser.	4	lebt		38,6	36,1	33,0	31,4	35,0 lebt
675	"	0,2 Kalbfserum	5	+		38,1	37,7	32,1	28,5	+
676	"	0,2 Chol.-Zieg.-Ser.	5	+		37,5	36,1	31,7	30,7	+
678	1/10 Oese Cholera	—	—	+					35,5	+ Reinkult. v. Vibrien

Versuchsreihe B mit Lectorserum und Kaninchenimmunserum.

No. des Tieres	Dosis des Virus	Serummenge	gegeben nach Stunden	Erfolg	Ablauf der Infection	Temperaturen der Stunden										
						vorher	2	3	4	5	6	7	8	20	30	
931	1/8 Oese	0,1 Lectorserum	2	+	Vor der Serum- injection überall viel Bakterien. 1 Std. später bis auf Gra- nulaabgelaufen. Der Ablauf ist mit Lectorserum etwas rapider	37,8	37,1	35,5	34,9	33,5	33,0	33,5	32,5	29,9		+
932	"	0,1 Chol.-Kan.-Ser.	2	lebt		35,1	39,0	36,8	36,2	36,0	36,5	36,7	36,9	37,2		
933	"	0,2 Lectorserum	3	"		38,3	38,8	37,2	35,5	34,2	34,3	34,3	31,7	34,0		
934	"	0,2 Chol.-Kan.-Ser.	3	+		38,5	39,7	37,9	37,6	37,6	37,3	36,2	36,2	37,2		
935	"	0,5 Lectorserum	4	+		38,1	39,8	40,0	39,0	37,2	35,3	34,0	33,4	+		
936	"	0,5 Chol.-Kan.-Ser.	4	+		37,8	39,6	39,3	38,2	36,3	34,7	33,2	32,9	+		
937	"	—	—	+												

Nicht die antitoxischen Eigenschaften, sondern die bakteriolytischen bestimmen den Wert des Serums nicht allein für die Prophylaxe, sondern auch für die Therapie der Cholerainfektion. Auf einem Mißverständnis scheint uns die Versuchsreihe von Kraus zu beruhen, aus der er hauptsächlich die Heilwirkung seines El Tor-Serums (Kalif und Kamee) folgert (S.-A. p. 24).

Er injiziert dort Mäusen Serum und Kultur gemischt subkutan und intraperitoneal und sieht, daß die Tiere am Leben bleiben, nicht aber, wie wir annehmen müssen, infolge von antitoxischen Serumfunktionen, sondern infolge der bakteriziden Wirkung, die merkwürdigerweise von Kraus hier gar nicht berücksichtigt wird.

Das gilt auch für seinen einzigen Heilversuch (S.-A. p. 25) an der Maus. Würde Kraus hier die Kontrollversuche statt mit Dysenterieserum mit einem nach unserer Auffassung rein bakteriziden Cholera-serum angestellt haben, so würde er wohl zu einer ganz anderen Auffassung gekommen sein.

Es sind nun einige Versuche, welche wir mit den in Exsudaten der an Cholera gestorbenen Meerschweinchen vorhandenen toxischen Substanzen angestellt haben, mitzuteilen.

Die Gewinnung derartiger giftiger Exsudate ist nicht ganz einfach.

Die Menge der im Peritoneum enthaltenen Flüssigkeit schwankt in weiten Grenzen von mehreren Kubikzentimetern bei dem einen Tier, bis zu verschwindenden Mengen bei einem anderen.

Auch die Giftigkeit der Exsudate scheint selbst bei Benutzung derselben Agarkultur erheblichen Schwankungen zu unterliegen. Ein weiterer Uebelstand, der viele Untersuchungen beeinträchtigt hat, ist der, daß bei der sich bedeutend länger hinziehenden Cholerainfektion recht häufig sekundäre Infektionen des Peritoneums durch Streptokokken zu verzeichnen sind, die mit dem Exsudat übertragen, Streptokokkeninfektionen bei den Versuchstieren erzeugen und dadurch die Versuche komplizieren.

Infolgedessen ist die Zahl einwandsfreier Experimente, über die wir zu berichten haben, nicht sehr groß. Immerhin sind sie, trotz ihrer geringen Zahl, kongruent genug, um Schlüsse auf das Fehlen einer antitoxischen Wirkung des Krausschen Serums zu gestatten. Was die Versuchstechnik anbelangt, so werden auch hier, ganz wie bei den analogen El Tor-Versuchen, die Exsudate zunächst möglichst klar zentri-

Tabelle IX.

Versuche über die Neutralisation des Choleraexsudatgiftes durch spezifische Sera.

Versuchsreihe A.

Tiere von 150 g

No. des Tieres	Menge des Exsudates	Menge des Anti-serums	Beide waren in Kontakt	Erfolg	Temperaturen												
					vorher	nach Stunden											
						1	2	3	4	5	6	7	8	20	24		
872	2,0 ccm	0,1 Chol.-Kan.-Ser.	20 Min. b. 15°	† spärlich. Streptokok. u. Diplokok. lebt	37,5	37,3	35,9	34,5	33,9	32,0	31,5	30,4	30,7	28,1	†		
873	4,0 „	1,0 Kalif.-serum	„	„	37,7	36,7	36,1	34,1	—	32,0	—	—	—	36,5			
874	4,0 „	1,0 Chol.-Kan.-Ser.	„	„	38,1	37,9	38,0	37,8	—	37,8	—	—	—	38,3			

Versuchsreihe B.

Tiere von 150 g

No. des Tieres	Menge des Exsudats	Menge des Anti-serums	Beide waren in Kontakt	Erfolg	Temperaturen									
					vorher	nach Stunden								
						1	2	3	4	5	6	7	8	20
899	3,0 ccm	1,0 Kalifserum	15 Min. b. 15°	† mikr. 0	37,8	36,4	36,9	36,3	34,5	34,5	34,3	35,3	35,1	†
890	1,0 „	0,3 Chol.-Kan.-Ser.	„	† mikr. 0	38,5	39,3	37,9	37,5	35,8	35,6	35,4	36,5	36,5	29,4 †

fugiert und dann mit dem Choleraserum resp. Kalifserum gemischt 15 Minuten bei 20° stehen gelassen, dann injiziert. Auch das Kontrolltier erhielt, um die etwa noch vorhandenen lebenden Cholerabakterien abzutöten, eine kleine Dosis bakteriziden Cholerakaninchenserums.

Aus diesen Resultaten müssen wir folgende Schlüsse ziehen:

In Versuch A hatte 1 ccm Kalifserum eine entschieden geringere Wirkung auf die Vergiftung mit der etwa 2—3-fachen Choleraexsudat-Giftosis als dieselbe Dosis unseres Cholerakaninchenserums, hergestellt durch einmalige Injektion kleinster Mengen von Cholerabakterien. Das Kaliftier hatte einen Temperaturabsturz bis 32°, während das Kontrollmeerschweinchen überhaupt keine Temperaturerniedrigung erkennen ließ.

Zu ähnlichen Schlüssen in bezug auf das Fehlen spezifischer antitoxischer Cholerawirkung führten uns Versuche mit abgetöteten Cholerabakterien. Es wurde die Sterilisierung mit Chloroformdämpfen vorgenommen; die tödliche Dosis beträgt, wie schon erwähnt, 20 mg für 200 g Meerschweinchen; 50 mg stellt also sicher das Doppelte der tödlichen Dosis dar.

Tabelle X.

Versuche über die Neutralisation des in den durch Chloroform abgetöteten Cholerabakterien enthaltenen Giftes durch spezifisches Serum.

Tiere von 200 g

No. des Tieres	Dosis des Giftes	Dosis des Anti-serums	beide in Kontakt	Erfolg	Temperaturen									
					vorher	nach Stunden								
						1½	2¾	4	5	6½	7½	8½	20	
867	50 mg	1,0 Kalifserum	15 Min. bei 15°	lebt	37,9	38,3	37,4	36,0	35,0	34,5	34,6	33,9	37,7	
868	30 „	do.	do.	„	38,2	39,4	38,0	37,4	37,1	37,2	37,8	37,8	38,5	
869	50 „	1,0 Chol.-Kan.-Ser.	do.	„	37,6	39,5	38,5	37,4	36,2	35,1	35,3	35,4	37,4	
870	30 „	do.	do.	„	37,7	38,9	38,1	36,3	35,5	34,6	36,2	36,5	37,5	

Aus diesen genau verfolgten Versuchen geht hervor, daß selbst 1 ccm Kalifserum die Giftwirkung von 50 mg Chloroformbakterien zum mindesten nicht stärker beeinflusste wie unser Cholerakaninchenserum.

Schlußbetrachtungen.

Ziehen wir das Fazit, so können wir den weitgehenden Folgerungen von Kraus und Russ nur sehr bedingt beitreten. Wir stimmen ihnen bei, daß die El Tor-Vibrionen ein akut wirkendes Toxin produzieren, und daß dasselbe durch Antitoxin serum neutralisiert wird.

Neben diesem Gift sind aber auch bei den El Tor-Vibrionen echte, an die Körper der Bakterien gebundene Endotoxine vorhanden, gegen

welche auch im Krausschen Serum ein wirksames Antitoxin nicht nachweisbar war.

Wichtig für die Bedeutung antitoxischer Sera bei der Behandlung von Infektionskrankheiten war des weiteren der Nachweis, daß bei der El Tor-Infektion das antitoxische Serum wesentlich durch seine bakterizide Quote wirkte, während das in ihm enthaltene Antitoxin in unseren aufs genaueste quantitativ abgemessenen Versuchen einen günstigen Einfluß auf den Ablauf der Infektion nicht auszuüben vermochte.

Des weiteren überzeugten wir uns, daß das El Tor-Antitoxin keineswegs, wie das Kraus und Russ annehmen, ein Universalantitoxin ist. Es versagt vollständig den Endotoxinen der Cholera vibrios und auch den Giftsubstanzen gegenüber, welche bei der Cholerainfektion der Meerschweinchen im Tierkörper sich bilden.

Es beeinflußt auch die Cholerainfektion nur durch seinen bakteriziden Anteil. Wenn Kraus und Russ glauben, daß durch ihre Versuche die Endotoxinlehre widerlegt sei, so müssen wir demgegenüber betonen, daß alle Versuche von Kraus und Russ mit der Pfeifferschen Lehre verträglich sind und ihr vielfach direkt zur Stütze gereichen.

Schon Koch hatte die Wirkung eines Giftes für die Entstehung der Cholerasympptome beim Menschen supponiert. Das ist unzweifelhaft als richtig aufzufassen. Trotzdem können wir den Standpunkt von Kraus und Russ nicht teilen, welche die Cholera als eine reine Toxikose bezeichnen. Es handelt sich hier nicht um eine Wortklauberei, sondern um eine bedeutungsvolle Differenz der Ansichten, denn nur auf der von uns vertretenen Basis wird die ja tatsächlich vorhandene Möglichkeit einer Immunisierung des Menschen gegen den natürlichen Infektionsmodus der Cholera durch Injektion abgetöteter Cholerakulturen verständlich, obwohl hierbei wohl unzweifelhaft nur bakterizide Schutzkräfte, nicht antitoxische in die Erscheinung treten. Die Cholera ist eben wesentlich ein Infektionsprozeß, der sich im Darmkanal in den oberflächlichsten Schichten abspielt, wobei die Vergiftung nur als etwas Sekundäres erscheint.

Der Beweis, daß echte Antitoxine gegen das Choleragift existieren, ist auch durch die Krausschen Untersuchungen bisher nicht erbracht worden.

Untersuchungen über das sogenannte antitoxische Typhusserum (Meyer-Bergell).

Wir können uns bei deren Besprechung der hierher gehörenden Versuche kürzer fassen, da Versuchsanordnung und Schlußfolgerungen denjenigen bei den Choleraersuchen durchaus entsprechen.

Wir stellten zunächst den bakteriziden Titer des Serums von Meyer-Bergell fest nach der bekannten Pfeifferschen Mischungsmethode und fanden, daß die untere wirksame Grenze etwa bei 0,25 mg gelegen ist.

Zu Kontrollversuchen wurde auch hier das Mischserum von Kaninchen, die mit je $\frac{1}{2}$ Oese bei 60° abgetöteter Typhusagarkultur einmal endovenös behandelt waren, und das zufällig fast denselben bakteriziden Titer zeigte wie das Meyer-Serum, herangezogen.

In den nun folgenden Versuchen bemühten wir uns, festzustellen, ob das Meyer-Serum in dem Sinne, die Toxine der Typhusagarkulturen zu neutralisieren. Wir ermittelten zunächst (Tabelle XI Reihe A), daß die tödliche Dosis erhitzter Typhusbakterien für 250 g schwere Meerschweinchen bei intraperitonealer Injektion zwischen 10 und 20 mg gelegen ist.

Tabelle XI.
Typhusgiftversuch.

A.

Prüfung der Giftigkeit von Typhus Gießen 2 Stdn. bei 60° abgetötet. Injektion intraperitoneal. Tiere von 200 g. 10 Minuten nach der Giftinjektion je 1,0 Normalkaninchenserum intraperitoneal.

No. des Tieres	Gift-dosis	Erfolg	Temperaturverlauf				
			vorher	nach Stunden			
				2	7	9	24
605	10 mg	lebt	37,7	36,2	34	35	35
606	20 "	+	37,7	36,1	30,0	28	+
607	30 "	+	37,5	36,5	28,0	27	+

In den nun zu beschreibenden Versuchen wurde die $1\frac{1}{2}$ –2-fache Gift-dosis mit der entsprechenden Serumdosis gemischt, 30 Minuten in Kontakt gelassen und dann injiziert.

Das Meyer-Bergellsche Serum wurde hierbei der Kürze halber als Pferdetyphusserum bezeichnet.

B.

Giftversuch (Gift wie vorher).

Tiere von 220–230 g. Gift und Sera bleiben 30 Minuten bei Zimmertemperatur in Kontakt.

No. des Tieres	Gift-dosis	Serumdosis	Erfolg	Temperaturverlauf								
				vorher	nach Stunden							
					2	3½	6½	17	26	40	48	72
609	30 mg	1,0 Pf.-Typh.-Ser.	lebt	37,3	38,9	33,0	30,5	31,5	33,5	38,6	38,1	+
608	30 "	1,0 Kan.-Typh.-Ser.	+	37,9	38,6	33,0	30,0	29,0	31,0	31,0	30,6	+
610	20 "	1,0 Pf.-Typh.-Ser.	lebt	37,8	38,6	34,0	32,5	29,5	33,0	39,0	39,3	—
611	20 "	1,0 Kan.-Typh.-Ser.	„	38,5	38,9	34,0	32,0	30,0	38,6	38,8	38,8	—
612	20 "	1,0 Norm.-Pf.-Ser.	+	38,0	32,0	32,0	32,0	25,0	+	+	+	—
613	20 "	1,0 Norm.-Kan.-Ser.	+	37,8	36,8	33,0	33,0	28,0	28,0	28,0	28,0	+

C.

Analoger Versuch mit Tieren von 210 g.

No. des Tieres	Gift- dosis	Serumdosis	Erfolg	Temperaturverlauf						
				vorher	nach Stunden					
					2	3	6	18	26	40
614	35 mg	1,0 Pf.-Typh.-Ser.	+	37,8	39,6	38,3	34,0	33	34	+
615	35 "	1,0 Kan.-Typh.-Ser.	+	37,0	38,6	39,3	36,0	32	32	+
616	35 "	1,0 Pf.-Norm.-Ser.	+	37,9	37,5	34,0	31,0	29	+	+
617	35 "	1,0 Kan.-Norm.-Ser.	+	37,6	38,5	31,0	32,0	+	—	+

Aus diesen Versuchen geht klar hervor, daß das Meyer-Bergellsche Serum nicht anders wirkt als unser Kaninchenimmenserum; auch hier haben beide Sera einen etwas größeren Einfluß auf die Intoxikation, als sie normalem Pferde- resp. Kaninchenserum zukommt.

Das entspricht durchaus den früheren Ergebnissen der Arbeit von Pfeiffer und Kolle (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXI) und den im ersten Teil dieser Abhandlung niedergelegten Choleraversuchen.

In den eben kurz besprochenen Experimenten wurde das Serum den Versuchstieren mit den abgetöteten Typhusbakterien gemischt injiziert. Um nun den supponierten Nebeneffekt des Serums (Verzögerung der

Resorption) auszuschalten, haben wir in den folgenden Versuchen die abgetöteten Bakterien zunächst mit Immunsrum in zum Teil enormen Dosen vorher gesättigt und dann abzentrifugiert. Nur der Bodensatz, welcher die mit den Antikörpern beladenen Bakterien enthielt, wurde in physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt, ohne Serum injiziert.

D.

Giftversuche (Fortsetzung).

Gift wie in A, B, C. Die Giftdosis (30 mg) wurde aber nach $\frac{1}{2}$ Stunde Kontakt mit dem Immunsrum abzentrifugiert und die Bodensätze wurden in je 1 cm Kochsalz-lösung injiziert.

No. des Tieres	Ge-wicht	Gift-dosis	Serumdosis	Erfolg	Temperraturverlauf					
					vorher	nach Stunden				
						1 $\frac{1}{2}$	3 $\frac{1}{2}$	5	6	20
622	250 g	30 mg	1,0 Pf.-Imm.-Ser.	†	38,8	32,0	24	+	+	—
623	250 "	30 "	2,0 Pf.-Imm.-Ser.	†	37,8	37,5	30	—	30	+
624	230 "	30 "	3,0 Pf.-Imm.-Ser.	†	38,5	33,0	31	—	30	+
625	230 "	30 "	1,0 Kan.-Imm.-Ser.	†	38,0	31,5	+	—	+	—
626	230 "	30 "	2,0 Kan.-Imm.-Ser.	†	38,6	32,5	26	—	26	+
627	230 "	30 "	3,0 Kan.-Imm.-Ser.	lebt	37,5	37,2	34	—	33	37,8

E.

Versuchsordnung und Prinzip wie in D, nur wurde das Gift mit 3mal 4,0 Immunsrum in 3 Fraktionen angesetzt je 2 Stunden bei 37° in Kontakt gehalten.

No. des Tieres	Ge-wicht	Gift-dosis	Serumdosis	Erfolg	Temperaturverlauf						
					vorher	nach Stunden					
						2	6 $\frac{1}{2}$	16	19	24	40
638	250 g	15 mg	12,0 Pf.-Imm.-Ser.	†	38,1	36,5	29,0	30,0	†	—	—
639	250 "	15 "	12,0 Pf.-Imm.-Ser.	lebt	37,9	39,2	28,5	33	—	36,7	38,4
640	250 "	20 "	12,0 Pf.-Imm.-Ser.	†	38,5	36,1	29,0	30	—	30	37,4
641	250 "	20 "	12,0 Pf.-Imm.-Ser.	lebt	37,7	37,5	32,0	32,5	—	38,6	37,8
642	250 "	20 "	12,0 Kan.-Imm.-Ser.	lebt	38,6	37,8	32,0	30	—	38,8	38,3

Bei dieser Versuchsordnung tritt auf das deutlichste hervor, daß nicht einmal der einfach letalen Dosis gegenüber selbst 12 ccm Serum Meyer-Bergell auch nur die Spur einer neutralisierenden Wirkung ausübt.

Damit war unser Urteil über den antitoxischen Wert des Meyer-Bergell-Serums wenigstens gegenüber den Typhus-Endotoxinen gefällt.

Trotzdem haben wir noch eine Reihe von Versuchen angestellt, ähnlich wie bei Cholera und Tor über den Einfluß des Serums auf den Ablauf der Typhusinfektion.

Diese Versuche können wir summarisch behandeln. Ihr Endergebnis war gleichfalls negativ, d. h. wir fanden keinerlei antitoxische Wirkung des Meyer-Bergell-Serums auf die im Verlaufe der Typhusinfektion der Meerschweinchen entstehende Intoxikation.

Eine weitere Fortführung dieser Versuche und deren Ausdehnung auf die Exsudatgifte mußte leider unterbleiben, da wir nach Aufbrauch der ersten Sendung keine neuen Serumproben von Meyer-Bergell erhalten haben.

Nachdruck verboten.

Ueber Beziehungen des Antitoxingehaltes des Diphtherieserums zu dessen Heilwert. Ueber Avidität der Antitoxine.

1. Mitteilung.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institut in Wien. Vorstand:
Prof. R. Paltauf.]

Von Prof. **R. Kraus** und Dr. **J. Schwoner**.

Seitdem Ehrlich im Jahre 1897 durch Einführung eines Standardserums konstante Maße für Giftlösungen geschaffen hatte und dadurch die Bemessung des Antitoxingehaltes von der Variabilität der Giftlösung unabhängig gestaltete, seitdem er statt des direkten Giftwertes als Testgiftosis als Maß den Bindungswert der Giftlösungen angenommen hatte, ist das Prinzip der Wertbemessung der Antitoxine (in vitro) nach Ehrlich allgemein anerkannt und die Wertbestimmung des Diphtherieheilserums nach Ehrlich allgemein geübt.

Daß wir in der von Ehrlich ausgearbeiteten Methode der Wertbestimmung eine exakte quantitative Titrierung des Antitoxingehaltes eines Serums besitzen, muß ohne weiteres zugestanden werden.

Ehrlich und die Mehrzahl der Forscher sehen aber in der Wertbemessung des Antitoxingehaltes in vitro auch die beste Methode der Bemessung des Heilwertes des Serums, indem als feststehend angenommen wird, daß der Antitoxingehalt eines Serums mit dessen Heilwert in strenger Proportionalität steht.

Wenn wir der Entwicklung der Methoden der Wertbemessung der Antitoxine nachgehen, so finden wir, daß bereits Tizzoni und später v. Behring Zweifel an der aprioristischen Annahme von den engen Beziehungen zwischen Antitoxingehalt und Heilwert des Tetanusantitoxins ausgesprochen haben. Die von Tizzoni und v. Behring gemachten Beobachtungen sind aber weiter nicht beachtet worden.

Am X. internationalen hygienischen Kongreß in Paris 1900 hat Roux als erster der Voraussetzung, auf welcher Ehrlich das Prinzip der Wertbestimmung der Heilsera aufgebaut hat, zu widersprechen versucht. Auf Grund der Versuche von Momon und Danysz glaubt Roux berechtigt zu sein, annehmen zu können, daß zwischen antitoxischem Wert, d. h. dem Gehalt eines Serums an Immunitätseinheiten und dem präventiven und kurativen Werte desselben Serums eine Parallele nicht bestehe. Sera, welche einen hohen Gehalt an Immunitätseinheiten besitzen, können unter Umständen schlechter präventiv und kurativ wirken als Sera, welche nach der Bestimmung des Gehaltes an Immunitätseinheiten als minderwertiger anzusehen sein müßten.

Marx hat die Angaben von Roux einer Nachprüfung unterzogen. Die Resultate, welche Marx ermittelt hat, widersprechen den von Roux mitgeteilten, so daß Marx in seinen Schlußfolgerungen den Standpunkt Ehrlichs ohne Einschränkung teilt. „Die toxinneutralisierende Kraft eines Diphtherieserums, sagt Marx, ist der Gehalt desselben an Immunitätseinheiten und die immuni-

sierende und heilende Wirkung eines Serums sind 2 Faktoren, die in strengster Beziehung stehen und zwar in der Weise, daß der Immunisierungs- und Heileffekt eines Serums dem Gehalt an Immunitätseinheiten direkt proportional ist. Die Anschauung Roux', daß der präventive und kurative Effekt der Diphtherieheilsera noch besonders bestimmt werden muß, besteht also nicht zu Recht. Es ist ferner gleichgültig, welcher dieser 3 Faktoren der Wertbestimmung des Diphtherieserums zugrunde gelegt wird. Da nun die Bestimmung des Gehaltes an Immunitätseinheiten nach der Ehrlichschen Methode nicht nur am leichtesten durchzuführen ist, sondern bei weitem die genauesten und exaktesten Resultate gibt, so ist die Bestimmung allen anderen vorzuziehen.“

Spätere Arbeiten aus dem Institute Pasteur von Cruveilhier, einem Schüler Roux', ausgeführt, versuchen weitere Stützen für die von Roux aufgestellte Behauptung zu erbringen. Auf Grund zahlreicher Heilversuche an Meerschweinchen (welche vorher mit Diphtheriekultur subkutan infiziert wurden und die nachher Diphtherieserum erhielten), nimmt Cruveilhier an, daß der Heilwert des Serums nicht ausschließlich vom Antitoxingehalt abhängig sei und daß die jetzt übliche Wertbestimmung nicht ausreiche, um die Wirksamkeit eines Serums exakt nachzuweisen. In einer noch nicht ausführlich mitgeteilten Arbeit von Steinhardt und Banzhof (Proc. of soc. f. exp. Biol. Medic. Vol. V. 1907) gelangten die Autoren zu entgegengesetzten Resultaten als Cruveilhier und halten an der Anschauung Ehrlichs fest.

Um eine erschöpfende geschichtliche Darstellung über den Stand der diskutierten Frage zu geben, ist es notwendig, noch über Arbeiten zu berichten, welche ebenfalls die strikte Beziehung des Vitrowertes eines Antitoxins zum Heilwerte als zweifelhaft erscheinen lassen. Diese Arbeiten, welche von Kraus und Přibram, Russ und Doerr ausgeführt wurden, beziehen sich auf Antitoxine gegen Vibrionentoxine und Dysenterieantitoxin.

Im Jahre 1903 konnte Kraus in einer Arbeit, betitelt „Ueber ein akut tödliches Bakterientoxin“, zeigen, daß die Avidität der Antitoxine eine prinzipielle Eigenschaft der Antitoxine sein dürfte. Das durch Giftvorbehandlung gewonnene Immunserum vermochte Gift des *Vibrio Nasik* in vitro schon nach kurzem Kontakte zu neutralisieren, ja es war sogar bei getrennter Injektion noch wirksam, zum Unterschiede vom normalen Serum, welches erst nach längerem Kontakte in vitro sich als giftneutralisierend erwiesen hatte. Ganz gleichen Verhältnissen konnte Kraus in Gemeinschaft mit Přibram beim Studium der Antitoxine gegenüber dem akut wirkenden Toxin der *El Tor*vibrionen begegnen und wiederum feststellen, daß der Vitrowert nicht identisch sein muß mit dem Getrennt- oder Heilwert eines Serums, daß demnach der Antitoxingehalt eines Serums, wie er durch die Mischungsmethode in vitro ermittelt wird, nicht in enger Beziehung zum Heilwerte stehen muß.

In Gemeinschaft mit Doerr konnte Kraus weitere Analogieen beim Dysenterieantitoxin nachweisen. Wir konnten sehen, daß das Dysenterieserum in einer Immunisierungsperiode wohl das Dysenterietoxin in vitro neutralisiere, nicht aber, selbst wenn 10-fach größere Serumdosen

verwendet wurden bei getrennter Injektion. Die Sera hatten einen bestimmten Antitoxingehalt, ohne im Organismus bei kurativer Anwendung heilend zu wirken. Auch hier ließen sich die postulierten engen Beziehungen zwischen Heilwert und Antitoxingehalt nicht wiederfinden. Auf diese Erfahrungen gestützt, haben wir in unserer Arbeit „Die experimentelle Grundlage einer antitoxischen Therapie der bacillären Dysenterie“ das Postulat aufgestellt, daß Dysenteriesera, welche therapeutisch Anwendung finden sollen, vorher im Tierversuch kurativ ausgewertet werden müssen.

Die von uns ermittelten Tatsachen, wonach beim Dysenterie- und Choleraserum die Avidität der Antitoxine (Qualität) den Heilwert der Sera ausmachen, und nicht die Quantität der in vitro bestimmten Antitoxine, machten es wünschenswert, die Beziehungen der Antitoxinmenge eines Serums zu dessen Heilwert auch bei anderen antitoxischen Seris zu studieren.

Zunächst haben wir uns dem Diphtherieserum zugewendet. Hier stehen die Meinungen schroff einander gegenüber. Auf der einen Seite behauptet Ehrlich, Marx, Steinhardt und Banzhof, daß eine Proportionalität zwischen Antitoxingehalt und Heilwert bestehe, andererseits glaubt Roux, Martin, Marfan, Cruveilhier, daß diese Beziehungen nicht vorhanden seien.

Die Entscheidung darüber, ob Ehrlichs Annahme oder die von Roux die richtige sei, hat nicht bloß theoretisches Interesse, sondern würde, wenn sich die Behauptung von Roux durch weitere Versuche sicher feststellen ließe, von großer Bedeutung werden für die Wertbemessung der Heilsera überhaupt.

In den Schlußsätzen zum Referate über Methoden der Serumprüfung am XIV. internationalen hygienischen Kongreß¹⁾ konnte der eine von uns (Kraus), gestützt auf gemeinschaftliche Versuche, behaupten, daß auch beim Diphtherieantitoxin zwischen der in vitro bestimmten Antitoxinmenge und Heilwert keine fixen Beziehungen bestehen dürften, daß demnach die quantitative Wertbestimmung, welche die Avidität des Antitoxins unberücksichtigt läßt, als Wertbemessung eines therapeutischen Serums nicht ausreichen dürfte.

Seither wurden die Versuche fortgesetzt und ergaben mit dem bereits im Referate kurz Mitgeteilten gleichlautende Resultate.

In dieser ersten Mitteilung sollen zunächst die Versuche wiedergegeben werden, aus welchen sich die Tatsache ergibt, daß der Gehalt an Immunitätseinheiten eines Diphtherieserums und die Heilkraft nicht in strengster Beziehung, in direkter Proportionalität stehen.

Versuchstechnik.

Im Gegensatz zu Cruveilhier, Steinhardt und Banzhof haben wir die Versuche nicht mit Bakterien angestellt, sondern hielten uns an die Versuchstechnik von Marx, welcher statt der variablen Kultur das konstantere Toxin verwendet hatte. Prinzipiell wichtig erschien es uns, die Menge des Toxins sowie die Zeit so zu variieren, daß konstante gleichmäßige Resultate erhoben werden konnten. Die zu den Versuchen verwendeten Gifte waren Testgifte, welche mittels des Standardserums nach Ehrlich geprüft waren. Es wurden stets dieselben

1) Das Referat wurde nach einem Uebereinkommen mit Herrn Geh. Ober-Med.-Rat Ehrlich und Herrn Dr. Martin nicht gehalten.

Giftlösungen benützt und deren letale Dosis für Kaninchen und Meerschweinchen stets genau geprüft. Die Sera, von Pferden gewonnen und zumeist frisch oder einige Monate alt, wurden nach Ehrlich bestimmt. Bei der Bestimmung niederwertiger Sera (30—50—100—150—200-fach) wurde auf den Todwert geprüft, so daß diese Sera genau den Ehrlichen Werten entsprachen. Die hochwertigen Sera (300—600-fach) wurden nicht immer genau ausgewertet, sondern zumeist begnügten wir uns mit Infiltraten, auch Glattwerten. Es kam ja hauptsächlich darauf an, zu wissen, daß die Sera über 300-, 500-, 600-fach waren und daß sie sicher höherwertiger waren wie die genau bestimmten 200-, 150-fachen. Da sich aus den Versuchen ergeben wird, daß mit der Hochwertigkeit die Qualität der Sera sich häufig verschlechtert, während niederwertige Sera zumeist besseren Heilwert geben, spielt für die experimentelle Entscheidung der in Diskussion stehenden Frage die Nichtberücksichtigung des L₁-Wertes hochwertiger Sera keine Rolle.

Heilversuche an Kaninchen.

Wir haben uns zunächst an die von Dönitz und Marx für diese Art der Versuche empfohlene Technik gehalten. Nach Dönitz ist die intravenöse Injektion von Toxin und Serum für Heilversuche eine unerläßliche Bedingung. „Spritzt man das Gift subkutan ein, so weiß man weder wie lebhaft die Resorption erfolgt, noch wann sie beendet ist. Um zu vermeiden, daß ein Teil des Giftes an der Injektionsstelle zurückgehalten und damit dem Einfluß des Antitoxins entzogen wird, muß man zu solchen Versuchen notwendigerweise die intravenöse Injektion wählen (Ransom). Nur dadurch wird das Gift gleichmäßig allen Organen zugeführt. Das Gift kann sofort in Wirksamkeit treten und seine Bindung wird bei seiner leichten Diffusionsfähigkeit schnell beendet sein. Mit dem Erfordernis der intravenösen Injektion war auch das Kaninchen als Versuchstier gegeben.“ Wir wählten 1000 g schwere Kaninchen als Versuchstiere, die sich nach den Vorversuchen mit Toxin als gleichmäßig giftempfindlich gezeigt haben. In den ersten Versuchen wurde 1 und $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Giftinjektion (20-fach letale Dosis) Serum injiziert. Nachdem sich gezeigt hat, daß die Tiere ausnahmslos selbst nach Injektion von 2 ccm Serum (hoch- und niederwertig) zugrunde gehen, ebenso rasch wie die Kontrolltiere, haben wir den Zeitpunkt der Seruminjektion kürzer gewählt. In diesen Versuchen, in welchen $\frac{1}{4}$ Stunde nach der intravenösen Giftinjektion (20-fach letale Dosis) Serum injiziert wurde, waren die Resultate schon derart, daß sie doch zu Schlußfolgerungen herangezogen werden konnten.

Es zeigt sich, wie aus der Tabelle I hervorgeht, daß 75 Einheiten eines 50-fachen Serums ebenso wirken wie 450 eines 300-fachen, wie 800 eines 400-fachen, 750 eines 500-fachen und 1200 eines 400-fachen Serums. Die Tiere, welche vom 50-fachen 1,5 ccm erhielten, blieben ebenso am Leben, wie die, welche 1,5, 2,0, 3,0 eines 300-, 400-, 500-fachen erhielten. Wenn wir noch die Versuche als brauchbar heranziehen wollen, in welchen der Tod der Kaninchen erst später als nach 15 Tagen eingetreten war, so würde sich ergeben, daß 45 A.E. eines 30-fachen († nach 22 Tagen), 150 A.E. eines 50-fachen († nach 43 Tagen), 450 A.E. eines 150-fachen († nach 20 Tagen), 300 A.E. eines 100-fachen († nach 17 Tagen) ebenso wirken wie 625 A.E. eines 350-fachen († nach 42 Tagen), 750 eines 250-fachen

verwendet wurden bei getrennter Injektion. Die Sera hatten einen bestimmten Antitoxingehalt, ohne im Organismus bei kurativer Anwendung heilend zu wirken. Auch hier ließen sich die postulierten engen Beziehungen zwischen Heilwert und Antitoxingehalt nicht wiederfinden. Auf diese Erfahrungen gestützt, haben wir in unserer Arbeit „Die experimentelle Grundlage einer antitoxischen Therapie der bacillären Dysenterie“ das Postulat aufgestellt, daß Dysenteriesera, welche therapeutisch Anwendung finden sollen, vorher im Tierversuch kurativ ausgewertet werden müssen.

Die von uns ermittelten Tatsachen, wonach beim Dysenterie- und Choleraserum die Avidität der Antitoxine (Qualität) den Heilwert der Sera ausmachen, und nicht die Quantität der in vitro bestimmten Antitoxine, machten es wünschenswert, die Beziehungen der Antitoxinmenge eines Serums zu dessen Heilwert auch bei anderen antitoxischen Seris zu studieren.

Zunächst haben wir uns dem Diphtherieserum zugewendet. Hier stehen die Meinungen schroff einander gegenüber. Auf der einen Seite behauptet Ehrlich, Marx, Steinhardt und Banzhof, daß eine Proportionalität zwischen Antitoxingehalt und Heilwert bestehe, andererseits glaubt Roux, Martin, Marfan, Cruveilhier, daß diese Beziehungen nicht vorhanden seien.

Die Entscheidung darüber, ob Ehrlichs Annahme oder die von Roux die richtige sei, hat nicht bloß theoretisches Interesse, sondern würde, wenn sich die Behauptung von Roux durch weitere Versuche sicher feststellen ließe, von großer Bedeutung werden für die Wertbemessung der Heilsera überhaupt.

In den Schlußsätzen zum Referate über Methoden der Serumprüfung am XIV. internationalen hygienischen Kongreß¹⁾ konnte der eine von uns (Kraus), gestützt auf gemeinschaftliche Versuche, behaupten, daß auch beim Diphtherieantitoxin zwischen der in vitro bestimmten Antitoxinmenge und Heilwert keine fixen Beziehungen bestehen dürften, daß demnach die quantitative Wertbestimmung, welche die Avidität des Antitoxins unberücksichtigt läßt, als Wertbemessung eines therapeutischen Serums nicht ausreichen dürfte.

Seither wurden die Versuche fortgesetzt und ergaben mit dem bereits im Referate kurz Mitgeteilten gleichlautende Resultate.

In dieser ersten Mitteilung sollen zunächst die Versuche wiedergegeben werden, aus welchen sich die Tatsache ergibt, daß der Gehalt an Immunitätseinheiten eines Diphtherieserums und die Heilkraft nicht in strengster Beziehung, in direkter Proportionalität stehen.

Versuchstechnik.

Im Gegensatz zu Cruveilhier, Steinhardt und Banzhof haben wir die Versuche nicht mit Bakterien angestellt, sondern hielten uns an die Versuchstechnik von Marx, welcher statt der variablen Kultur das konstantere Toxin verwendet hatte. Prinzipiell wichtig schien es uns, die Menge des Toxins sowie die Zeit so zu variieren, daß konstante gleichmäßige Resultate erhoben werden konnten. In den Versuchen verwendeten Gifte waren Testgifte, welche im Diphtheriedardserum nach Ehrlich geprüft waren.

1) Das Referat wurde nach einem Uebertragungsprotokoll von Ehrlich und Herrn Dr. Martin nicht veröffentlicht.

en
gel
eil-
Im
nti-
den
nti-
och-

darauf
 der
 und-
 ürfe,
 unde

e mit
ferten.
s ein
Auch
f eine
grigere
innen,
Aber
3 cem
ß die
nach
indi-

9

(† nach 49 Tagen), 750 eines 500-fachen († nach 33 Tagen) und 1500 A.E. eines 500-fachen († nach 25 Tagen), oder anders ausgedrückt, 1,5 ccm und 3 ccm eines 30—50-fachen Serums wirken ebenso wie 1,5 und 3 ccm eines 300—500-fachen Serums. Vergleicht man auf der anderen Seite die Mengen der Antitoxineinheiten hochwertiger Sera, welche das Tier nicht zu retten vermochten, mit der Menge der Antitoxineinheiten niederwertiger Sera,

Tabelle I.

20-fach 0,1 Toxin intravenös nach $\frac{1}{4}$ Stunde Serum intravenös.

0,01 Toxin intrav. Kan. † 3 Tg.
 0,005 „ „ „ † 2 „
 0,003 „ „ „ lebt

Serum	Wert nach Ehrlich	Serummenge	Menge der Antitoxineinheit	Ueberlebt	Tod nach
Kling	30-fach + 24 Std.	2,0 3,0			8 Tagen 9 „
Serie 78	30-fach + 4 Tg.	0,5 1,5	15 45	22 Tage	2 „ 22 „
Klipp	50-fach + 3 Tg.	1,5 3,0	75 100	43 Tage	10 „ 43 „
Kalif	50-fach glatt	1,0	50		2 „
	180-fach + 2 Tg.	1,5	75	lebt	—
Kurier	100-fach + 4 Tg.	1,5	150		9 Tagen
	150-fach + 2 Tg.	3,0	300	17 Tage	17 „
Landvogt	150-fach	1,5	225		4 „
	300-fach + 2 Tg.	3,0	450	20 Tage	20 „
Landsturm	300-fach glatt	0,5 1,5	150 450	lebt	5 „ —
Lift	350-fach glatt	1,0 1,5	350 625	42 Tage	6 Tagen 42 „
Landsknecht	400-fach glatt	1,5 3,0	600 1200		9 „ 2 „
Leopold	250-fach glatt	1,5 3,0	275 750	49 Tage	6 „ 49 „
Laertes	400-fach glatt	1,0 2,0	400 800	lebt	15 „ —
Laudon	500-fach glatt	1,0 1,5	500 750	lebt	4 Tagen —
Serie 689	500-fach glatt	1,5 3,0	750 1500		7 Tagen 9 „
Serie 700	500-fach glatt	1,0 1,5	500 750	33 Tage	4 „ 33 „
Serie 686	500-fach glatt	1,0 2,0	500 1000	25 Tage	6 „ 14 „
		3,0	1500		25 „
Serie 712	400-fach glatt	1,5 3,0	600 1200	lebt	7 Tagen —

welche Tiere geheilt haben, so zeigt sich, daß nach Anwendung von 375 A.E. eines 250-fachen, 350 A.E. eines 300-fachen, 500 eines 500-fachen, 750 eines 500-fachen, 600 eines 400-fachen der Tod der Tiere innerhalb 7 Tagen eingetreten ist im Gegensatz zu Tieren, welche 75, 45, 150, 300 A.E. niederwertiger Sera erhielten und die am Leben blieben oder spät zugrunde gingen. Auch die Tabelle II verzeichnet ähnliche Resultate wie Tabelle I. Es genügen zur Heilung eines Tieres vom kaum 180-fachen Serum 300 A.E. sowie 1000 eines kaum 500-fachen Serum, 1200 A.E. eines 600-fachen, 1000 A.E. eines 500-fachen Serums ver-

mögen andererseits Kaninchen mit ebensoviel Gift vergiftet nicht am Leben zu erhalten.

Tabelle II.

0,05 Toxin intravenös (1-fach letale Dosis) nach $\frac{1}{4}$ Stunde Serum intravenös.

Serum	Wert nach Ehrlich	Serummenge	Menge der Antitoxineinheit	Ueberlebt	Tod nach
806	150-fach glatt	1,5	225		8 Tagen
	250-fach + 48 Std.	3,0	450		14 "
815	150-fach Strang	1,5	225		8 "
	200-fach + 48 Std.	3,0	450		4 "
814	180-fach + 48 Std.	1,5	kaum 225		19 "
		3,0	" 450	lebt	—
751	180-fach + 5 Tg.	1,5	225		9 Tagen
		3,0	450		12 "
741	180-fach + 3 Tg.	1,5	kaum 225		14 "
		3,0	" 450	lebt	—
799.	200-fach glatt	1,5	300		11 Tagen
	300-fach + 3 Tg.	3,0	600		6 "
Laertes 18. V.	500-fach + 48 Std.	1,0	kaum 500		9 "
		2,0	1000	lebt	—
Laudon	500-fach glatt	1,0	500		5 Tagen
		2,0	1000		14 "
Landsknecht	600-fach glatt	1,0	600		5 "
		2,0	1200		5 "
Lift	350-fach + 3 Tg.	1,0	kaum 350		7 "
		2,0	700		5 "
Lustig	350-fach glatt	1,0	350		—
		2,0	700		7 Tagen

Diese Versuche zeigen, daß im Heilversuch in der Regel um so mehr Antitoxineinheiten notwendig sind, um Heil-effekte zu erzielen, je hochwertiger die Sera sind. Im allgemeinen kann man wohl sagen, daß Sera mit niedrigem Antitoxingehalt in 1 ccm (50—150-fach) an Heilkraft den hochwertigen überlegen sind insofern als weniger Antitoxineinheiten zur Heilung notwendig sind als von hochwertigen.

Wenn auch diese Versuche mit großer Wahrscheinlichkeit darauf hinweisen, daß die Voraussetzung über die engen Beziehungen der Heilkraft und der Wertigkeit des Diphtherieserums, welche die Grundlage der Ehrlichschen Wertbestimmung bilden, nicht richtig sein dürfte, haben wir doch nach weiteren Stützen für die mitgeteilten Befunde gesucht.

Zunächst war der Grund maßgebend, daß die Heilversuche mit großen Giftdosen, 20-fach letale Dosis keine konstanten Resultate lieferten. Es zeigte sich häufig, daß bei einer gleichen Serumdosis ein Tier am Leben blieb, ein anderes ging zugrunde. Auch dieser Fall trat manchmal ein, daß Kaninchen im Heilversuch auf eine höhere Serumdosis zugrunde gingen, wogegen sie auf eine niedrigere am Leben blieben. Viel konstantere Resultate ließen sich gewinnen, wenn kleinere Giftmengen (1-fach tödliche Dosis) benutzt wurden. Aber selbst in diesen Versuchen zeigte es sich manchmal, daß z. B. 0,3 ccm Serum nicht gewirkt haben, wohl aber 0,1. Es scheint, daß die Stärke der Giftbindung bei gleicher Giftdosis und nach gleicher Zeit bei Kaninchen eine ganz verschiedene indi-

viduelle sein dürfte, so daß gleiche Serumdosen desselben Serums einmal heilen, das andere Mal es nicht imstande sind. In den Kaninchenversuchen war der günstigste Zeitpunkt für die Heilwirkung eine Viertelstunde nach der Giftinjektion.

Wenn auch nach Dönitzs Annahme die Heilversuche nur bei intravenöser Injektion von Gift und Gegengift die besten Resultate ergeben können, haben wir doch versucht, die subkutane Giftinjektion statt der intravenösen anzuwenden, um auf diese Weise durch langsame Resorption des Giftes später als $\frac{1}{4}$ Stunde nach der Giftinjektion heilen zu können. Zu diesen weiteren Versuchen haben wir Meerschweinchen herangezogen.

Heilversuche an Meerschweinchen.

Die Versuche wurden derart ausgeführt, daß das Gift (mehr als 3-fach tödliche Dosis) seitlich subkutan Meerschweinchen (250 g) und $\frac{1}{2}$, 1 und 2 Stunden später Antitoxin auf der anderen Seite des Brustkorbes subkutan injiziert wurde. Die zu diesen Versuchen verwendete Giftlösung war eine andere als die in früheren Versuchen. 0,05 des subkutan injizierten Giftes töteten Meerschweinchen in 2 Tagen, 0,03 ccm tödlich in 4 Tagen, 0,01 ccm macht Infiltrat. Die Wertbestimmung nach Ehrlich ergibt $L_{+0.65}$ in 3 Tagen, 0,62 in 2 Tagen $L_0 = 0,5$ ccm. Die in den Versuchen verwendete 0,1 ccm mehr als 3-fach tödliche Dosis tötete Meerschweinchen 719, 634, 448 in 2—3 Tagen.

Die Versuche, welche in Tabelle Ia und b zusammengestellt sind, zeigen, daß $\frac{1}{2}$ Stunde nach der Giftinjektion vom hochwertigeren Serum fast ebensoviel Antitoxineinheiten notwendig waren zur Heilung wie vom niederwertigen. Vom 100- und 150-fachen Serum wurden 0,5, 0,45 Antitoxineinheiten gebraucht, wie vom 600-fachen, um die Meerschweinchen am Leben zu erhalten. Der Versuch würde natürlich den

Tabelle Ia.

Kurativer Versuch an Meerschweinchen (250 g).

0,1 Toxin subkutan nach $\frac{1}{2}$ Stunde subkutan Serum.

Serum	Wert nach Ehrlich	Subkutan injiziertes Serum	Antitoxineinheiten	Injiziert am	Meerschweinchen	Ueberlebt	Tod nach
Leander vom 15. Okt.	600-fach	0,0005 0,0008	0,3 0,48	12. Nov. 16. "	574 573	— lebt	3 Tagen —
Loki vom 15. Okt.	600-fach	0,0001 0,0005 0,0008 0,001	0,06 0,3 0,48 0,6	12. " 12. " 16. " 6. "	590 227 575 492	— — — lebt	48 Stunden 4 Tagen 6 " —
Lois vom 15. Okt.	150-fach	0,0001 0,0005 0,003	0,015 0,075 0,45	12. " 14. " 16. "	587 583 541	— — lebt	2 Tagen 2 " —
Kibitz	100-fach	0,0001 0,0005 0,005	0,01 0,05 0,5	12. " 12. " 6. "	565 586 26	— — lebt	2 Tagen 2 " —
Kurier	70-fach	0,0001 0,0005 0,0008 0,001 0,005	0,007 0,035 0,056 0,07 0,35	12. " 12. " 16. " 6. "	589 591 576 564 414	— — — — lebt	2 Tagen 24 Stunden 2 Tagen 3 " —

Tabelle Ib.
 Uebersichtstabelle.
 Kurativer Versuch an Meerschweinchen.
 subkutan 0,1 Toxin nach $\frac{1}{2}$ Stunde subkutan Serum.

Wert nach Ehrlich	Serummenge	Antitoxin-einheiten	Lebt	Serummenge	Antitoxin-einheiten	Tod nach
600-fach	0,0008	0,48	lebt	0,0005	0,3	3 Tagen
600-fach	0,001	0,6	"	0,0008	0,48	6 "
150-fach	0,003	0,45	"	0,0005	0,075	3 "
100-fach	0,005	0,5	"	0,0005	0,05	2 "
70-fach	0,005	0,35	"	0,001	0,07	3 "

früheren an Kaninchen ausgeführten widersprechen und im Sinne Ehrlichs zu verwerten sein. Dieser hier mitgeteilte Versuch, wie sich zeigen wird, spricht aber nur dafür, daß nach $\frac{1}{2}$ Stunde das Toxin von der Subcutis aus nicht resorbiert sein könnte. Die nachträgliche Seruminjektion vermag das Gift noch lokal zu neutralisieren. Es kommt bei der Bemessung des Heilwertes, wie Dönitz schon betont, hauptsächlich auf die Neutralisation des an die inneren Organe bereits gebundenen Toxins an.

Weitere in dieser Richtung ausgeführte Versuche, in welchen der Zeitintervall zwischen Gift- und Seruminjektion größer gewählt wurde (1 und 2 Stunden), haben eine vollständige Bestätigung der an Kaninchen im Heilversuch erhobenen Befunde ergeben.

Der nächste Versuch (Tabelle IIa und b), in welchem 1 Stunde nach der Giftapplikation Serum injiziert wurde, bestätigt zunächst die im ersten Versuch gemachte Annahme und bringt weitere Beweise für die Inkongruenz zwischen Heilwert und Antitoxingehalt des Serums. Es ergibt sich, daß

0,49	Antitoxineinheiten eines 70-fachen Serums
0,75	" " 150 "
1,5	" " 150 "

ebenso wirken wie

1,8	Antitoxineinheiten eines 600-fachen Serums
2,4	" " 600 "
4	" " 500 "

Um mittels hochwertigen Serum die Tiere heilen zu können, brauchen wir demnach nicht gleichviel Antitoxineinheiten wie vom niederwertigen, sondern entsprechend der Wertigkeit eines Serums häufig entsprechend mehr Antitoxine. Wenn wir den Heilwert des 70-fachen Serums einer Berechnung zugrunde legen, in welcher der Heilwert proportional der Antitoxinmenge sich verhalten sollte, wie es Ehrlich annimmt, so müßten, da 0,49 AE. oder 0,07 ccm eines 70-fachen heilen,

vom 500-fachen	0,009 ccm
" 600- "	0,008 "

genügen, um ebenso zu wirken.

Welche Bedeutung diese Befunde von der abnehmenden Heilkraft hochwertiger Sera im Verhältnis zu 50—100—150-fachen für die Klinik haben dürften, liegt klar zu Tage. Bisher nimmt man ja nach Ehrlich an, daß der Heilwert proportional der Wertigkeit eines Serums gleich ist, also je hochwertiger ein Serum, desto größere Heilkraft. Dementsprechend wird auch vom 500-fachen $3\frac{1}{2}$ mal, vom 1000-fachen 7mal

weniger injiziert als vom 150-fachen. Auf Grund dieser Versuche aber müßte man wohl verlangen, daß von den hochwertigen Seris zu mindestens gleiche Mengen injiziert werden, wie vom 150—100-fachen. Es ist aber möglich, daß sogar, wie diese Versuche lehren, manche hochwertigen Sera selbst in dieser Menge weniger wirksam sein dürften als niederwertigere. Diese Fragen wollen wir aber noch nicht in Diskussion stellen, solange klinische Vergleiche, angestellt mit gleichen Mengen niederwertigen und hochwertigen Serums, nicht vorliegen.

Neben der Tatsache, daß mit zunehmender Antitoxinmenge die Heilkraft des Serums fast proportional sinkt, zeigen die Versuche im allgemeinen, daß der Antitoxingehalt eines Serums überhaupt nicht als

Tabelle IIa.

Kurativer Versuch an Meerschweinchen (250 g).

0,1 Toxin subkutan nach 1 Stunde subkutan Serum.

Serum	Wert nach Ehrlich	subkutan injiziertes Serum	Antitoxineinheiten	Injiziert am	Meerschwein.	Ueberlebt	Tod nach
Leander	600-fach	0,001 0,003	0,6 1,8	16. Nov. 21. "	563 564	— lebt	2 Tagen
Loki	600-fach	0,001 0,003 0,004	0,6 1,8 2,4	16. " 21. " 27. "	578 572 626	— — lebt	2 " 9 "
Laertes	600-fach	0,005 0,008	3,0 4,8	13. " —	665 711	— lebt	3 "
Landsknecht	600-fach	0,001 0,003	0,6 1,8	2. Jan. 14. Dez.	645 513	— lebt	2 "
Laudon	500-fach	0,003 0,005 0,008	1,5 2,5 4,0	14. Dez.	255 675 658		4 " 2 " lebt
Landsturm	400-fach	0,003 0,005	1,2 2,0	14. " 14. "	614 674	lebt	17 Tagen
Lois	150-fach	0,001 0,003 0,004 0,005 0,005	0,15 0,45 0,6 0,75 0,75	16. Nov. 21. Dez. 27. Nov. 4. Dez. 15. Okt.	584 575 627 651 556	— — — lebt "	2 " 7 " 7 " 15 "
Leander vom 15. Nov.	200-fach	0,003 0,005 0,008 0,01	0,6 1,0 1,6 2,0	4. Dez. 6. "	652 646 655	— — lebt	24 Stunden 48 " 5 Tagen
Laudon vom 15. Nov.	150-fach	0,003 0,005	0,45 0,75	14. "	232 682	lebt	4 "
Kondor	150-fach	0,004 0,005 0,008 0,01	0,6 0,75 1,2 1,5	13. " 2. Jan.	596 699 740 689		3 " 4 " 6 " 6 "
Serie 849	150-fach	0,003 0,005	0,45 0,75	14. Dez.	678	lebt	5 "
Kiebitz	100-fach	0,005 0,01	0,5 1,0	11. " 1. "	555 559	lebt "	
Kurier	70-fach	0,001 0,005 0,006 0,007	0,07 0,35 0,42 0,49	16. Nov. 11. " 21. " 27. "	596 561 546 624	— — — lebt	3 " 6 " 6 "

Tabelle IIb.
 Uebersichtstabelle.
 Kurativer Versuch an Meerschweinchen.
 Subkutan 0,1 Toxin nach 1 Stunde subkutan Serum.

Wert nach Ehrlich	Serummenge	Antitoxin-einheiten	Lebt	Serummenge	Antitoxin-einheiten	Tod nach
600-fach	0,003	1,8	lebt	0,001	0,6	2 Tagen
600-fach	0,004	2,4	"	0,001	0,6	2 "
				0,003	1,8	9 "
600-fach	0,008	4,8	"	0,005	3,0	3 "
600-fach	0,003	1,8	"	0,001	0,6	2 "
500-fach	0,008	4,0	"	0,005	2,5	2 "
400-fach	0,005	2,0	"	0,003	1,2	17 "
150-fach	0,005	0,75	"	0,003	0,45	7 "
				0,004	0,6	7 "
150-fach	0,01	1,5	"	0,005	0,75	4 "
				0,008	1,2	5 "
150-fach	0,005	0,75	"	0,003	0,45	4 "
150-fach				0,005	0,75	3 "
				0,01	1,5	6 "
150-fach	0,005	0,75	"	0,003	0,45	5 "
100-fach	0,01	1,0	"	0,005	0,5	6 "
70-fach	0,007	0,49	"	0,006	0,42	6 "

Basis für die Heilkraft herangezogen werden kann. Unabhängig vom Antitoxingehalt kann ein niederwertiges Serum schlechter oder besser wirken als ein anderes gleichwertiges. Ein hochwertiges Serum kann auch manchmal eine viel höhere Heilkraft haben, als andere gleichwertige, und umgekehrt kann es viel weniger wirksam sein. Wovon diese Verschiedenheiten des Heilwertes abhängen, läßt sich derzeit nicht sagen. Wir vermuten, daß die Heilkraft der Sera, i. e. deren Avidität, eine Eigenschaft der Antitoxine, ebenso variabel sein dürfte, wie der Antitoxingehalt desselben. Die größte Avidität hängt offenbar mit einer bestimmten Menge der Antitoxine zusammen (50—100—150-fach), kann aber auch bei diesen Seris ab- und zunehmen, im Organismus und in vitro sich ändern. Je hochwertiger die Sera bei Immunisierung werden, um desto mehr sinkt gewöhnlich in der Regel die Avidität.

Wie locker die Beziehung zwischen Heilwert und Antitoxinmenge sein kann, zeigen folgende Versuche mit Serum Leander und Laudon. Diese Sera hatten beim Aderlaß am 15. Okt. einen 600- (Leander) und 300- (Laudon) fachen Wert. Beim nächsten Aderlaß am 19. Nov. waren die Sera bloß 150-fach. Der Heilversuch zeigt nun, daß Serum Leander (600-fach) vom 15. Okt. in Mengen 0,005 (3 AE.) heilt (2,4 Antit. † 5 Tagen), wogegen das Serum vom 19. Nov. (150-fach) bei 0,01 (1,5) Antitoxineinheiten heilt (1,2 AE. † in 5 Tagen). Die Menge der Antitoxine sinkt ums 4-fache und trotzdem genügen noch vom zurückgegangenen Serum 1,5 AE. zur Heilung, also bloß die Hälfte weniger als vom 600-fachen. Ebenso eklatant ist das Mißverhältnis zwischen Heilwert und Antitoxinmenge im Versuche mit Serum Laudon. Das 300-fache Serum vom 15. Okt. heilt in Mengen von 0,008 (2,4 AE.) (1,5 Antit. † in 3 Tagen). Das Serum vom 19. Nov. (150-fach heilt in Mengen 0,005) (0,75 AE.) (0,45 AE. †). Trotzdem das Serum um die Hälfte der Antitoxinmenge geringwertiger geworden ist, hat es noch immer einen 3mal besseren Heilwert als das 300-fache Serum.

Auch für die Ueberprüfung der Sera lassen sich bereits an diesen Beispielen Anhaltspunkte dafür gewinnen, daß die jetzige Art der Ueberprüfung nach dem Antitoxin-gehalt und die daraus abgeleiteten Bestimmungen nicht den tatsächlichen Verhältnissen entsprechen dürften.

Es sei hier bloß auf die Notwendigkeit der Revision unserer jetzigen Wertbestimmung hingewiesen. Den nächsten Mitteilungen bleibt es vorbehalten, die vielen Fragen, die sich aus dem eben mitgeteilten Tatsachen ergeben, auszuarbeiten.

Eine Bestätigung der im Heilversuch nach einer Stunde gefundenen Werte ergibt sich noch im folgenden. Es ließ sich (Tab. III a u. b) noch bei einem Zeitinterwall von 2 Stunden zwischen Gift und Seruminjektion mit Sicherheit die Disproportionalität zwischen Heilwert und Antitoxin-gehalt erweisen. 12 AE. eines 150-fachen Serums wirken wie 18 AE. (bezw. 6 † nach 28 Tagen) eines 600-fachen oder 60 AE. eines anderen 600-fachen Serums.

Tabelle III a.

III. Kurativer Versuch an Meerschweinchen (250 g).
0,1 Toxin subkutan nach 2 Stunden, subkutan Serum.

Serum	Wert nach Ehrlich	Subkutan injizierte Serum-menge	Anti-toxin-einheiten	Injiziert am	Meerschweinchen	Ueberlebt	Tod nach
Lois v. 15. Okt.	150-fach	0,004	0,6	29. Okt.	540	—	4 Tagen
		0,008	1,2	29. "	633	—	3 "
		0,05	7,5	29. "	631	—	3 "
		0,08	12,0	7. Dez.	667	lebt	—
Loki v. 15. Okt.	600-fach	0,004	2,4	29. Okt.	635	—	3 Tagen
		0,008	4,8	29. "	500	—	5 "
		0,01	6	7. Dez.	673	—	24 "
		0,03	18	7. "	670	lebt	—
Leander v. 15. Okt.	600-fach	0,005	3	29. Okt.	668	—	2 Tagen
		0,008	4,8	29. "	—	—	3 "
		0,05	30	29. "	—	—	5 "
		0,08	48	7. Dez.	—	—	7 "
		0,1	60	7. "	—	lebt	—

Tabelle III b.

Uebersichtstabelle.

Kurativer Versuch an Meerschweinchen nach 2 Stunden,
subkutan 0,1 Toxin H₁ alt — subkutan Serum.

	Wert nach Ehrlich	Serum-menge	Anti-toxin-einheiten	Lebt	Serum-menge	Anti-toxin-einheiten	Tod nach
I 600-fach	0,1	60	}	lebt	0,08	48	7 Tagen
II 600-fach				lebt	0,004	2,4	3 "
	0,03	6 18	}	lebt	0,008	4,8	5 "
				lebt	0,01	6	28 "
150-fach	0,08	12	}	lebt	0,008	1,2	4 "
				lebt	0,05	7,5	4 "

Tabelle IV.
Zusammenfassende Uebersichtstabelle.
Kurative Versuche nach $\frac{1}{2}$ —1—2 Stunden.

Wert nach Ehrlich	Nach $\frac{1}{2}$ Stunde	Resultat		Nach 1 Stunde	Resultat		Nach 2 Stunden	Resultat	
	Antitoxin- einheiten	lebt	Tod nach	Antitoxin- einheiten	lebt	Tod nach	Antitoxin- einheiten	lebt	Tod nach
Leander 600-fach	0,3 0,48	lebt	3 Tg.	0,6 1,8	lebt	4 Tg.	48 60	lebt	7 Tg.
Loki 600-fach	0,48 0,6	lebt	6 "	0,6 2,4	lebt	4 "	2,4 4,8 18	lebt	3 5 "
Lois 150-fach	0,075 0,45	lebt	2 "	0,45 0,6 0,75	lebt	7 " 6 "	1,2 7,5 12	lebt	3 3 "
Kurier 70-fach	0,07 0,3	lebt	3 "	0,42 0,049	lebt	6 " 6 "			

Wenn wir die hier gefundenen Tatsachen zusammenfassend betrachten, ergibt sich zunächst als prinzipiell wichtige Errungenschaft, daß den Antitoxinen neben ihrer spezifisch neutralisierten Eigenschaft eine für Heilsera wichtige Eigenschaft zuzuschreiben sei — die Avidität. Die Eigenschaft befähigt die Antitoxine in der Zeiteinheit die Toxine lockerer oder fester zu binden oder die Verbindung der Toxine mit den Geweben zu beeinflussen. Danach hängt der Heilwert der Antitoxine nicht von der Menge der Antitoxine allein ab, wie man eben bisher allgemein annimmt, sondern von dessen Avidität und deren Stärke. Daraus würde sich auch die notwendige Konsequenz ergeben, daß die bisher geübte Auswertung antitoxischer Heilsera im Mischungsversuch nicht zweckentsprechend sei und durch eine andere, die auf dem Prinzip der Aviditätsbestimmung der Antitoxine aufgebaut ist, ersetzt werden müßte.

Schlußsätze.

1) Zwischen Antitoxinmenge und Heilwert des Diphtherieserums müssen keine fixen Beziehungen bestehen.

2) Dem hochwertigen (300—600-fachen) Diphtherieserum kommt in der Regel eine geringere Heilwirkung zu als solchem, welches weniger wertig ist (100—150-fach).

3) Der Heilwert eines Serums, i. e. Avidität, scheint von der Zu- oder Abnahme der Antitoxinmenge während der Immunisierung unabhängig zu sein.

4) Die Avidität der antitoxischen Sera ist eine prinzipielle Eigenschaft des Antitoxins und soll bei der Wertbemessung berücksichtigt werden.

5) Die bisherige Wertbemessung nach Ehrlich zeigt in ausgezeichneter Weise die Menge der Antitoxine an, berücksichtigt aber nicht den Heilwert eines Heilserums.

Nachtrag.

Während der Drucklegung dieser Arbeit und nach Veröffentlichung der Schlußsätze zum Referate am XIV. intern. hyg. Kongr. erschienen Arbeiten (Arch. f. Hyg. Bd. XLIV und Centralbl. f. Bakt. 1908) von P. Th. Müller, welche die hier studierte Avidität der Antitoxine bei Agglutininien verfolgen. Im großen und ganzen bestätigt Müller die von uns in den verschiedenen Arbeiten über Avidität der Antitoxine mitgeteilten Tatsachen. Nur in einer Frage finden wir einen Widerspruch, nämlich daß die Avidität proportional der Wertigkeit der Agglutinine sein soll. Dieser Widerspruch war Veranlassung zu diesbezüglichen Versuchen, die Herr Dr. v. Eisler durchgeführt hat und über die er demnächst berichten wird. Aus seinen Versuchen, welche er mit Cholera- und Typhusagglutininien (Pferdeserum) angestellt hatte, geht hervor, daß die von Müller aufgestellte Behauptung nicht allgemein gültig sein könne, da in v. Eislers Versuchen hochwertige Agglutinine eine geringere Avidität zeigten als niederwertige.

Literatur.

- Roux, Bericht d. X. internat. hygien. Kongr. in Paris 1900.
 Marx, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XXXVIII.
 Ehrlich, Die Wertbemessung des Diphtherieheilsersums. (Klin. Jahrb. Bd. VI.)
 Cruveilhier, Annales de l'institut Pasteur, 1904, 1905.
 Kraus, Centralbl. f. Bakter. Bd. XXXIV, 1903.
 Kraus u. Pribram, Centralbl. f. Bakter. 1906.
 Kraus u. Russ, Centralbl. f. Bakter. 1907.
 Kraus u. Doerr, Zeitschr. f. Hygiene. 1906.
 Kraus, Schlußsätze zum Ref. am XIV. intern. hyg. Kongr. 1907 über die Methode der Serumprüfung.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Blutuntersuchungen bei Typhus, insbesondere durch die Gallekultur.

[Aus der Kaiserlichen bakteriologischen Anstalt für Lothringen zu Metz.]

Von

Dr. E. Baumann,
 Stabsarzt im 3. Schles. Inf.-Rgt.
 Nr. 156, Brieg,

und

Dr. W. Rimpau,
 jetzigem Leiter der bakteriolog.
 Anstalt zu Hagenau,

früheren Assistenten der bakteriologischen Anstalt für Lothringen zu Metz.

Bis vor wenigen Jahren beschränkte man sich bei der bakteriologischen Diagnose des Typhus abdominalis, abgesehen von der Agglutinationsprüfung (Widal), fast nur auf die Untersuchung von Stuhlgang und Urin auf Typhusbacillen. Noch im Jahre 1900 schreiben Scholz und Krause (1): „Aussaaten von Blut der Typhuskranken sind völlig ungeeignet für die Diagnose, da nur in seltenen Fällen Typhusbacillen im Kreislaufe angetroffen werden.“

Erst in neuerer Zeit werden bei Typhus allgemein Methoden angewandt, um die im Blute kreisenden Krankheitserreger nachzuweisen. Derartige Untersuchungsmethoden sind für die Frühdiagnose des Typhus

von besonderer Wichtigkeit, da die am meisten zur Diagnose benutzte Widalsche Reaktion oft erst in der 2. Woche oder, wenn überhaupt, noch später auftritt; und da die bakteriologische Stuhluntersuchung im Beginn der Erkrankung keine allzuguten Resultate ergibt.

Schon einige Jahre nach Entdeckung des Typhusbacillus suchte man deshalb im Blute, das der Fingerkuppe oder einer Vene entnommen war, die Keime nachzuweisen. Dies ist auf zweifache Weise möglich:

1) einfach bakterioskopisch durch Färbung und mikroskopische Betrachtung eines Bluttröpfchens;

2) kulturell und zwar

- a) durch unmittelbares Hinzufügen des Blutes zu den üblichen Nährböden (flüssige, feste, Oberflächenausstrich, „eigenes“ Blut),
- b) mittelbar nach Vorbehandlung des Blutes mit gewissen chemischen Mitteln zur Verhütung der Gerinnung (Hirudin, Galle).

Den Angaben Meisels (2) und in neuester Zeit Pöppelmans (3), schon mikroskopisch im gefärbten Ausstrich Typhusbacillen im Blute nachgewiesen zu haben, ist kein großes Gewicht beizulegen, zumal Seitz (4), Merkel und Goldschmidt (5) u. a. sowie vor kurzem erst C. Fraenkel (6) die obengenannten Beobachtungen nicht bestätigen konnten.

Deshalb nahm man bald kulturelle Verfahren zur Hilfe, um die wenigen, etwa vorhandenen Bacillen zur Vermehrung zu bringen.

So hat man entweder das Blut in verflüssigte, feste Nährböden (Agar, Gelatine) überimpft, wobei die einzelnen Keime zu getrennten Kolonien auswachsen, so daß sich hierbei eine Zählung der im Blute vorhandenen Keime ermöglichen, und auch eine etwaige Verunreinigung erkennen läßt, oder man streicht das Blut auf der Oberfläche von Agarplatten aus.

Ferner kann eine Anreicherung der etwa vorhandenen Keime durch Anwendung flüssiger Nährböden stattfinden, wie Bouillon, Peptonwasser oder in dem steril entnommenen Blute selbst.

Viele Jahre hindurch sind nur vereinzelte positive Befunde von Typhusbacillen im Blute mittels Kulturverfahren bekannt geworden [Fraenkel und Simmonds (7), Silvestrini (8), Thiernich (9), Block (10)]. Erst im Jahre 1897 berichtete Kühnau (11) über eine größere Reihe erfolgreicher Untersuchungen. Er mischte Blut mit Bouillon und goß dann Agarplatten. Trotz Anwendung großer Blutmengen (10—20 ccm) hat er nur bei 27 Proz. Typhusbacillen gefunden. Bessere Erfolge hatten Castellani und Schottmüller. Castellani (12) mischte 10—40 Tropfen Blut mit großen Mengen Bouillon (300 ccm) und erzielte so bei 85 Proz. positive Erfolge.

Schottmüller (13) bringt das Blut in flüssig gemachten Agar, so daß mindestens eine Verdünnung 1:3 eintritt, und gießt dann Platten. Er konnte so in etwa 83 Proz. Typhusbacillen im Blute nachweisen.

Auf diese oder ähnliche Weise wurden von zahlreichen Forschern Typhuskeime aus dem Blute gezüchtet. So unter anderen von

Courmont (14)	unter 9 Fällen in 100 Proz.
Lemierre (15)	" 23 " " 100 "
Perquis (16)	" 40 " " 95 "
Rolly (17)	" 50 " " 88 "
Hewlett (18)	" 40 " " 87 "
Cole (19)	" 15 " " 73 "
Auerbach u. Unger (20)	" 10 " " 70 "

Ueber positive Befunde berichten ferner Stefanelli (21), Kraus (22), Bandel (23) u. a. Da man annahm, daß die bakteriziden Kräfte des Blutes die vorhandenen Typhuskeime abtöten, bezw. in der Entwicklung hemmen, so empfahl Neufeld (24), das Blut in Mengen von 10—20 ccm mit etwa 100 ccm Bouillon zu mischen, so daß durch sofortige starke Verdünnung die Bakteriolyse unwirksam gemacht würden.

Außer der Beimpfung von verflüssigten festen Nährböden mit Blut, haben andere Forscher versucht, durch Ausstrich des Blutes auf die Oberfläche von erstarrten Agarplatten Typhuskeime nachzuweisen. Bei diesem Oberflächenausstrich lassen sich natürlich Typhuskolonien leichter erkennen, als beim Schottmüllerschen Verfahren, wo die meisten Kolonien in der Tiefe liegen.

Soweit sich ersehen läßt, hat Le Pape (33) zuerst diese Methode bei 11 Fällen angewandt, indem er je 2 ccm flüssiges Blut auf Agarplatten ausstrich. Hierbei fand er 3mal Typhusbacillen.

Außer dem gewöhnlichen Agar wurden nach Bekanntwerden der neuen Typhusnährböden, wie Drigalski-Agar, Endos Fuchsinagar und Malachitagar, besonders diese für den Blutaussstrich angewandt.

Müller und Gräf (25) benutzten von den zur Anstellung der Widalschen Reaktion eingesandten Blutproben den Blutkuchen, welchen sie zerkleinern und auf Drigalski-Platten mit einem Glasspatel verreiben. So fanden sie bei 8 noch fiebernden, klinisch sicheren Typhusfällen stets Typhusbacillen; allerdings hatten sie verhältnismäßig große Blutmengen zur Verfügung.

Kurpjuweit (26) prüfte dieses Verfahren bei dem in der bakteriologischen Anstalt Saarbrücken zur Untersuchung gelangten Material nach und konnte bei 12 Proz. der Fälle Typhusbacillen nachweisen.

Bei seinen später noch zu besprechenden Versuchen verwandte Kayser (27) 0,5 ccm Blut zum Oberflächenausstrich auf Fuchsin-Agarplatten (Endo), wobei er in 18,4 Proz. positiven Erfolg hatte.

An Stelle der künstlichen Nährböden wurde von mancher Seite auch das sterile Krankenblut selbst, ohne jeden Zusatz, als Nährsubstrat verwendet, um eine Vermehrung bezw. Konservierung der Krankheitskeime darin zu erzielen. Zur Verhütung der Gerinnung muß das Blut entweder durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert oder mit oxalsaurem Natron, Hirudin, Galle u. s. w. versetzt werden.

Schon Silvestrini (8) konnte im Jahre 1892 einigemal im Fingerblute Typhuskranker nach mehrtägiger Aufbewahrung die Erreger nachweisen.

Eingehendere Versuche stellte Lemierre (15) an. 10 ccm defibriniertes Blut wurden bei 37° längere Zeit aufbewahrt. Frühestens nach 3—4 Tagen waren in den meisten Fällen Typhusbacillen zu finden, und zwar unter 23 Fällen 21mal.

Auch Eppstein und Korte (23) stellten fest, daß in manchen Fällen eine deutliche Anreicherung der Bacillen im eigenen (Oxalat-)Blute stattfand.

Rolly (17) dagegen beobachtete, daß im defibrinierten bzw. Oxalatblute etwa vorhandene Typhusbacillen zugrunde gingen. Bei längerer fortgesetzter Beobachtung, nach dem Vorgange Lemierres, wäre das Ergebnis unseres Erachtens vielleicht günstiger gewesen.

Müller und Graef wandten zur Verhütung der Gerinnung des Blutes Hirudinlösung an und konnten hierbei in mehreren Fällen Typhuskeime züchten.

Rolly nahm zu demselben Zwecke eine Peptontraubenzuckerlösung, die, mit Venenblut zu gleichen Teilen versetzt, 24 Stunden bei 37° aufbewahrt und dann mit Glycerinagar zu Platten gegossen wurde. Er kam hierbei zu dem Ergebnis, daß die Typhusbacillen sich augenscheinlich nur wenig durch die Aufbewahrung in Peptontraubenzucker vermehrt hatten. Diese Erfahrung entspricht der obenerwähnten Beobachtung Lemierres, daß anfangs im Blute eine Hemmung im Wachstum der Typhusbacillen einzutreten scheint, während erst nach mehreren Tagen starkes Wachstum zu beobachten ist. Ob die erst nach anfänglicher Entwicklungshemmung auftretende Vermehrung der Typhusbacillen etwa auf dem Zugrundegehen der vorhandenen Komplemente beruht, möge dahingestellt sein.

Seit kurzem wird die Galle zur Züchtung der Typhusbacillen aus dem Blute benutzt. Conradi (29) hat zuerst die Eigenschaft der Galle, die Blutgerinnung zu verhindern, für die Praxis verwertet. Er versetzt Rindergalle mit 10 Proz. Pepton — zum besseren Wachstum der Typhusbacillen — und mit 10 Proz. Glycerin — zur Hemmung etwa vorhandener Fäulniskeime. Zur Blutentnahme hat er ein Schröpfmesser mit 1 cm breiter Klinge angegeben, um aus dem Oberlappchen genügende Mengen Blut zu erlangen, während in Krankenhäusern die Venenpunktion gemacht werden soll. Das in Kapillaren aufgefangene Blut wird sofort in ein mit der obenerwähnten Gallemischung gefülltes Röhrchen entleert und zwar im Verhältnis 1:2. Die Röhrchen werden dann 16 Stunden bei 37° gehalten. Danach werden Ausstriche auf Drigalski-Agarplatten angefertigt, um so Typhusbacillen nachweisen zu können. Conradi will mit seinem Verfahren sehr gute Erfolge erzielt haben.

Kayser hält die von Conradi angegebenen Zusätze zur Galle für unnötig und verwendet nur reine sterilisierte Rindergalle. Je nach der Menge des verwendeten Blutes war bei seinen Versuchen das Ergebnis mehr oder weniger günstig. Bei Anreicherung von 2,5 ccm Blut wurden bei 62 Proz. Typhusbacillen gefunden, bei nur 0,5 ccm Blut dagegen nur in 24 Proz., bei direktem Ausstrich ohne Gallenanreicherung, wie schon erwähnt, jedoch nur bei 18,5 Proz. Wie hieraus ersichtlich, ist das Ergebnis durch das Galleverfahren bei geringen Blutmengen (0,5 ccm) nur wenig günstiger geworden (18,5 bzw. 24 Proz.).

Fornet (30) vereinigte gewissermaßen die Methoden von Müller-Graef und Conradi-Kayser, indem er von den eingesandten Blutproben die Gerinnsel in sterilisierter Galle bei 37° anreicherte. Die Galle soll die Gerinnsel auflösen, und die auf diese Weise freigemachten Typhusbacillen könnten sich vermehren. Unter 19 Typhusfällen wurden so 14mal Typhusbacillen gefunden.

Conradi (31) hat ebenfalls das Fornetsche Verfahren angewandt und die eingesandten Blutproben von 0,05—0,2 ccm Größe in Peptonglyzeringalle angereichert. Unter 60 untersuchten Fällen waren 40 Proz. positiv.

Meyerstein (32) schlug vor, statt der Galle selbst deren Hauptbestandteile, die gallensauren Salze, zu verwenden. Der Vorteil dieses Verfahrens soll in der angeblich billigeren Herstellungsweise liegen. Dies erscheint aber zweifelhaft, da doch wohl überall die als wertlos anzusehende Galle von den Schlachthöfen unentgeltlich oder billig abgegeben werden wird.

Aus allen oben angegebenen Tatsachen ergibt sich, daß die bakteriologische Blutuntersuchung bei Typhus mit den verschiedensten Methoden ausgezeichnete Resultate liefert, wenn nur größere Mengen von Blut entnommen werden.

Wenn größere Mengen (10—20 ccm) des sterilen durch Venenpunktion gewonnenen Blutes zur Verwendung gelangen, entweder mit oder ohne Zusatz von Nährböden (Lemierre), so konnten bei 70—100 Proz. der Typhusfälle die Erreger nachgewiesen werden. Die Venenpunktion wird natürlich nur in größeren Krankenhäusern vorgenommen werden können. Außerhalb derselben, in der Praxis, muß man sich mit geringeren Blutmengen begnügen, die durch Einstich in das Ohrfläppchen oder Fingerkuppe mittels Lanzette oder besonderer Blutfeder gewonnen werden und natürlich kaum steril zu erhalten sind. Das zu diesem Zwecke von Conradi angegebene Schröpfungsmesser wird sich in der Praxis wohl kaum einbürgern, da es ziemlich breite und tiefe Wunden setzt.

Die so entnommenen nicht sterilen Blutproben müssen auf elektive Nährböden (Drigalski-Agar, Galle u. s. w.) weiter übertragen werden, um die Typhusbacillen darin nachzuweisen.

Bei dem Gallekulturverfahren waren 60—70 Proz. positiv. Conradi und Kayser hatten bei ihren Untersuchungen meist ziemlich große Blutmengen zur Verfügung, im Durchschnitt wohl 5,0 ccm. Da das Krankenmaterial Kayzers zum großen Teil in der Straßburger Universitätsklinik liegt, und das Blut auch wohl oft durch Venenpunktionen gewonnen ist, so hätten sich bei direkter Züchtung (Castellani, Schottmüller, Lemierre) wahrscheinlich noch bessere Ergebnisse erzielen lassen, als mit der Gallekultur. Auch das Conradische Material stammt vielfach aus den Hüttenlazaretten der Saargegend, in denen die Entnahme größerer Blutmengen auf keine Schwierigkeiten stößt.

Anders liegen aber die Verhältnisse bei unserem Material, über welches im folgenden die Rede sein wird. Unsere Untersuchungen wurden an der Bakteriologischen Anstalt für Lothringen zu Metz im Frühjahr 1906 vorgenommen. Von den in Betracht kommenden Kranken lagen nur wenige in Krankenhäusern, welche sämtlich nicht den Anforderungen der Neuzeit entsprachen. So lagen von unseren später zu erwähnenden 60 Erkrankungsfällen nur 34 in Krankenhäusern und 5 waren Insassen einer Irrenanstalt. Eine Venenpunktion aus diagnostischen Gründen hat sich hier bis jetzt noch nicht ermöglichen lassen.

Die bakteriologische Anstalt ist deshalb auf die zur Agglutinationsprüfung in Kapillaren übersandten Blutproben angewiesen. Eine

Kapillare faßt 0,5 ccm. Die von den Aerzten eingesandten Kapillaren enthalten aber höchstens zur Hälfte Blut, oft noch weniger. Rechnet man noch das zur Widalschen Reaktion verwandte Serum ab, so bleibt für die Untersuchung auf Typhusbacillen günstigenfalls nur etwa 0,1 ccm Blutkuchen übrig.

Von den eingelaufenen Blutproben haben wir bei 12 Typhusfällen den Blutkuchen nach Müller und Graefs Angaben auf Drigalski-Agar mit Hilfe des Glasspatels zerrieben. Diese Versuche sind sämtlich negativ ausgefallen, was bei den geringen Mengen des Materials nicht zu verwundern ist. Müller und Graef hatten aber bei ihren Versuchen viel größere Blutmengen, durchschnittlich 2 ccm, die in Reagenzgläsern eingeliefert wurden, zur Verfügung.

Die Gallekultur mit flüssigem Blut wandten wir 10mal an. Es handelte sich hierbei um Typhuskranken, die in den Krankenhäusern zu Metz lagen. Mit der Blutfeder entnahmen wir Blut aus dem Ohr-läppchen, das vorher mit Alkohol abgerieben war, und ließen das Blut in Reagenzgläser mit 5 ccm sterilisierter Rindergalle tropfen. Die Galle wurde vom Schlachthof bezogen, in Reagenzgläser gefüllt und im Dampftopf $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde sterilisiert. Die benutzten Blutmengen betrugen durchschnittlich 0,4 ccm. Größere Blutmengen zu erhalten war unmöglich, schon deshalb, weil noch Blut zur Anstellung der Widalschen Reaktion gebraucht wurde. Die mit Blut beschickten Galleröhrchen wurden 2 Tage bei 37° aufbewahrt, dann wurden auf je eine Drigalski- und Malachit-Platte 5–10 Tropfen ausgestrichen. Die Malachitplatten wurden nach dem Lentzschen Verfahren weiter behandelt.

Bei diesen Versuchen wurden nur in einem Falle Typhusbacillen gefunden, und zwar bei einem Kranken in der 1. Woche, während die übrigen sich in der zweiten oder dritten Krankheitswoche befanden.

In einigen Fällen wurden die Galleröhrchen nach weiterem 5- bis 8-tägigem Aufenthalt im Brutschrank nochmals in der obenerwähnten Weise ausgestrichen, jedoch immer ohne Erfolg.

Auf den ausgestrichenen Platten fanden sich oft zahlreiche Kolonien der verschiedenartigsten Bakterien, die teilweise auch gramnegativ waren. Wenn also Meyerstein bei der Galleblutkultur auf den Plattenausstrich verzichten will, und den negativen Ausfall der Gram-Färbung von Bacillen, die etwa in der Gallekultur gewachsen sind, für beweisend hält, so können leicht Irrtümer unterlaufen.

In einem Falle wurde auch stark blutiger Stuhl einer Typhuskranken mit Galle gemischt und, wie oben angegeben, weiter behandelt, aber ebenfalls ohne Erfolg.

Nach dem Fornetschen Verfahren wurden die eingesandten Blutproben von 60 Typhuskranken mit Galle (wie oben erwähnt) angereichert, und zwar oft 5–8 Tage lang. Es zeigte sich, daß auch nach dieser Zeit die Gerinnsel nicht aufgelöst waren. Wenn nach 2 Tagen Typhusbacillen nicht gefunden werden konnten, so wurden auch nach 5–8-tägiger Bebrütung keine gezüchtet.

In 5 Fällen wurden nach 2-tägiger Aufbewahrung der Galleröhrchen auf den ausgestrichenen Drigalski-Platten Typhusbacillen nachgewiesen. Insgesamt konnten also bei 60 Typhusfällen 6mal (10 Proz.) mit Hilfe der Gallekultur die Erreger

gefunden werden. Von den Erkrankten befand sich einer in der ersten Krankheitswoche, die übrigen in der zweiten.

Unter den 60 Erkrankungsfällen, bei denen das Gallekulturverfahren angewendet wurde, befanden sich 5 Paratyphusfälle. Bei allen fiel das genannte Verfahren stets negativ aus.

In der folgenden Tabelle sind unsere sämtlichen positiven Fälle zusammengestellt, zugleich mit einer Uebersicht über die sonstigen bakteriologischen Befunde bei denselben.

Es geht hieraus hervor, daß im Urin niemals, im Stuhl nur 3mal unter den 6 Fällen die Erreger nachgewiesen werden konnten. Die Widalsche Reaktion fiel beim 2. Fall zur Zeit, als das Gallekulturverfahren mit günstigem Erfolge angewendet wurde, negativ aus, war bei 1:50 allerdings positiv. Nach 10 Tagen war die Agglutinationsprüfung auch bei 1:100 positiv, während durch die zu gleicher Zeit angesetzte Gallekultur diesmal keine Typhusbacillen nachgewiesen werden konnten. Bei den übrigen Fällen war die Widalsche Reaktion von vornherein positiv.

Tabelle 1.

N ^o	Name	Krankheits-woche	Gallekultur	Widal	Stuhl	Urin	Bemerkungen
1	C.	1.	+	+	¹⁾	—	1) Gestorben vor Einsendung von Material
2	P.	1.	+	— ²⁾	+	—	
3	K.	2.	+	+	—	—	2) 10 Tage später positiv.
4	L.	2.	+	+	—	—	
5	W.	2.	+	+	+	—	
6	V.	2.	+	+	+	—	

Unter 6 Fällen konnte also in einem Falle durch das Galleverfahren die Diagnose „Typhus“ mit Bestimmtheit gestellt werden, bevor die Agglutinationsprüfung positiv ausfiel; dies entspricht fast genau dem Prozentsatz, den auch Kayser bei seinen Versuchen gefunden hatte (15 Proz.). Was die Verteilung unserer 60 Erkrankungsfälle auf die einzelnen Krankheitswochen betrifft, so entfielen, wie Tabelle 2 zeigt, 11 auf die erste Krankheitswoche, davon positiv 2, 30 auf die zweite, davon positiv 4, und 15 bzw. 4 auf die dritte und vierte, davon keiner positiv.

Tabelle 2.

Krankheits-woche	Zahl der Fälle	davon positiv	Proz.
1.	11	2	19
2.	30	4	13
3.	15	0	—
4.	4	0	—

Von den in der 1. Woche untersuchten Fällen waren demnach 19 Proz. positiv, von den in der 2. 13 Proz., während für alle 60 Erkrankte das Galleverfahren in 10 Proz. ein positives Ergebnis hatte. Also wird auch hierdurch bestätigt, daß das Ergebnis der bakteriologischen Blutuntersuchung bei Typhus um so günstiger ist, je früher in der Krankheit untersucht wird.

Unsere Resultate bei Anwendung der Gallekultur sind aber nicht so günstig, wie sie von Conradi und Kayser erzielt wurden. Die

Gründe dafür sind teilweise schon oben auseinandergesetzt. Einmal liegt es an dem in zu geringer Menge eingeschicktem Material. Ferner kam dasselbe in den meisten Fällen erst längere Zeit nach Beginn der Erkrankung zur Untersuchung. So stammten von den eingelieferten Blutproben der erwähnten 60 Fälle nur etwa $\frac{1}{6}$ aus der 1. Woche, fast $\frac{1}{8}$ aber aus der 3. und 4. Bei der einen Versuchsreihe Conrads (31), welche die gleiche Anzahl Fälle enthält, liegen dagegen die Verhältnisse weit günstiger. Hier kommen auf die 1. Woche 25, auf die 2. 17, auf die 3.—5. 14 Erkrankungen, auf die 1. Woche entfallen also bei Conradi über $\frac{1}{8}$ sämtlicher Fälle, auf die 3.—5. dagegen weniger als $\frac{1}{4}$. Hieraus läßt sich auch entnehmen, daß bei unseren Fällen die Meldung der Erkrankungen erheblich später erfolgt sein wird, als im Gebiete anderer Untersucher.

Bei der heutzutage noch bestehenden Schwierigkeit des bakteriologischen Nachweises der Typhuserreger muß jedes Mittel dankbarst begrüßt werden, durch das man auch in einer verhältnismäßig geringen Anzahl von Fällen die Diagnose zu stellen bezw. die klinische Diagnose zu bestätigen vermag und als solches ist das Gallenanreicherungsverfahren, um das sich Conradi, Kayser und Fornet in jüngster Zeit vor allen Verdienste erworben haben, anzusehen.

Abgeschlossen Ende 1906.

Anmerkung bei der Korrektur: Aehnliche Erfahrungen wie wir hat auch Venema am Hygienischen Institut der Universität Halle mit der Untersuchung der eingesandten Blutcoagula mittels Gallenanreicherung gemacht (Hygienische Rundschau. 1907. p. 1399). Unter 38 Fällen fand er nämlich nur einmal Typhusbacillen, das sind 2,6 Proz. — Uebrigens wurde bei $\frac{1}{6}$ der eingesandten Proben wegen zu geringer Mengen von Blutkuchen von der Gallekultur Abstand genommen, während wir alle eingelaufenen Proben untersucht haben. — Nach Venema kommt deshalb die Galleblutkuchenkultur bei Anwendung von Kapillaren für die Untersuchungsämter praktisch nicht in Frage, dagegen sind bei größeren Blutmengen die Ergebnisse weit günstiger.

Literatur.

- 1) Scholz und Krause, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XIII. Heft 4—5.
- 2) Meisel, nach Baumgartens Jahresberichten 1886.
- 3) Pöppelmann, Deutsche med. Wochenschr. 1906.
- 4) Seitz, nach Baumgartens Jahresberichten 1886.
- 5) Merkel und Goldschmidt, nach Baumgartens Jahresberichten 1887.
- 6) Fraenkel, C., Hyg. Rundsch. 1906.
- 7) Fraenkel, E. und Simmonds, nach Baumgartens Jahresberichten 1886.
- 8) Silvestrini, nach Baumgartens Jahresberichten 1892.
- 9) Thiemich, nach Baumgartens Jahresberichten 1895.
- 10) Block, nach Baumgartens Jahresberichten 1897.
- 11) Kühnau, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXV. p. 492.
- 12) Castellani, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. p. 477.
- 13) Schottmüller, Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 32 und Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. p. 368.
- 14) Courmont, nach Baumgartens Jahresberichten 1900.
- 15) Lemierre, Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 1573.
- 16) Perquis, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVI. p. 480.
- 17) Rolly, Münch. med. Wochenschr. 1904. p. 1041.
- 18) Hewlett, nach Baumgartens Jahresberichten.

- 19) Cole, nach Baumgartens Jahresberichten 1900.
- 20) Auerbach und Unger, nach Baumgartens Jahresberichten 1899.
- 21) Stefanelli, nach Baumgartens Jahresberichten.
- 22) Kraus, Med. Klinik. 1906. No. 49.
- 23) Bandel, Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 1092.
- 24) Neufeld, in Kolle und Wassermann, Handb. der path. Mikroorg.
- 25) Müller und Gräf, Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 69.
- 26) Kurpjuweit, Arb. aus dem Kais. Ges.-Amt. 1906.
- 27) Kayser, Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 823 und 1953.
- 28) Eppenstein und Korte, Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 1149.
- 29) Conradi, Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 58 und Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 1361 und 1654.
- 30) Fornet, Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 1053.
- 31) Conradi, Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 2386.
- 32) Meyerstein, Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 1864 und 2148.
- 33) Le Pape, nach Baumgartens Jahresberichten.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

- | | |
|--|--|
| <p>Baumann, E. u. Rimpau, W., Bakteriologische Blutuntersuchungen bei Typhus, insbesondere durch die Gallekultur, p. 136.</p> <p>Fiebiger, J., Ueber durch Trematoden verursachte Hautwucherungen bei Zeus faber und das subkutane Vorkommen von Trematodencysten, p. 62.</p> <p>Hottinger, Robert, Bacillus suipestifer, p. 31.</p> <p>Kraus, E. u. Schwoner, J., Ueber Beziehungen des Antitoxingehaltes des Diphtherieserums zu dessen Heilwert, p. 124.</p> <p>Negri, A., Beobachtungen über Sarkosporidien, p. 56.</p> | <p>Pfeiffer, E. u. Friedberger, E., Zur Frage der Endotoxine und der Anti-endotoxine bei Cholera und Typhus, p. 98.</p> <p>Salomon, Ernst, Zur Unterscheidung der Streptokokken durch kohlenhydrathaltige Nährböden, p. 1.</p> <p>Schereschewsky, J., Experimentelle Beiträge zum Studium der Syphilis, p. 41.</p> <p>Sittler, Paul, Beiträge zur Bakteriologie des Säuglingsdarmes, p. 14.</p> <p>Wolf-Eisner, Alfred, Die Bindungsverhältnisse der Organgewebe gegenüber Toxinen und ihre klinische Bedeutung für Inkubation und natürliche Immunität, p. 70.</p> |
|--|--|

Beiträge zur Bakteriologie des Säuglingsdarmes.

[Aus der Universitäts-Kinderklinik Straßburg i. E. (Prof. O. Kohts)
und der Säuglingsabteilung der medizinischen Universitätsklinik Marburg
(Prof. L. Brauer).]

Von Dr. Paul Sittler, Assistenten der med. Klinik Marburg.

(Schluß.)

Als weiteren Beweis dafür, daß es die Hefe ist, auf deren Rechnung das Erscheinen einer Flora von zahlreichen Bifidus-Bacillen im Stuhle zu setzen ist, ist auch der Umstand heranzuziehen, daß das erste Auftreten des Bacillus bifidus gewöhnlich mit dem Erscheinen der Hefezellen im Stuhle erfolgte, und daß die Bifidus-Bacillen im Stuhle meist haufenweise um die Hefezellengruppen herum gelagert sind. — Neumayer¹⁾ hat gezeigt, daß Hefezellen, ohne Einbuße an ihrer Lebensfähigkeit zu erleiden, den ganzen Digestionstraktus passieren können.

Pat. No. XXII; 1 Monat (Dyspepsie), aufgenommen am 19. Sept., erhält je 30 g Milch: 45 g Milchzuckerwasser (5-proz.) und 2 g Gelatine täglich (in 20-proz. Lösung); der Stuhl zeigt bis zum 24. Sept. das Bild der gemischten „Kuhmilchstuhlflora“ mit zahlreichen gramnegativen Kurzstäbchen (*B. lactis aërogenes*).

Am 24. und 25. Sept. statt der Gelatine 3mal 0,5 g Tannalbin und $\frac{1}{2}$ Levurettin-tabletten; am 25. Sept. abends treten im Bakterienbilde des Stuhles Hefehaufen auf, umgeben von zahlreichen grampositiven Stäbchen, die sich bei der anaëroben Kultur als *Bacillus bifidus* erweisen. (Kein Wachstum von *B. acidophilus*.) — Am 26. Sept. abends enthält der gelbe, breiige, schwach saure Stuhl überwiegend Bifidus-Bacillen.

Pat. No. XX; 4 Wochen (Dyspepsie infolge plötzlichen Abstillens), aufgenommen am 18. Sept.; erhält vom 19. Sept. an $\frac{1}{2}$ Milch: 5-proz. Milchzuckerwasser.

Der gelbe schleimig-alkalische Stuhl zeigt neben einzelnen Bifidus-Bacillen die gemischte „Kuhmilchstuhlflora“ (21. Sept.).

Vom 21. Sept. bis inklusive 23. Sept. täglich 6mal 1 g Gelatine; der am 23. Sept. entleerte gelb-schleimige saure Stuhl zeigt dasselbe Bild der Kuhmilchstuhlflora.

Vom 24. Sept. an täglich 3mal 0,5 g Tannalbin und $\frac{1}{2}$ Levurettin-tabletten; vom 25. Sept. an außer dieser Medikation, statt der bisher gegebenen $\frac{1}{2}$ Milch, eine Mischung von 30 g Milch: 45 g Milchzuckerwasser.

Der am Abend des 25. Sept. entleerte Stuhl (gelb-schleimig, alkalisch) enthält Hefen (Levuretin) und überwiegend gramnegative Kurzstäbchen; am 27. Sept. werden (bei Fortsetzung der Hefe-Tannalbin-Therapie) im ganzen 3 schleimige alkalische Stühle entleert, Hefezellenhaufen enthaltend, deren Umgebung überwiegend aus Bifidus-Bacillen besteht.

Am 28. Sept. 2 Stühle; der Abendstuhl ist gelb-breig, schwach sauer und zeigt den *Bacillus bifidus* fast in Reinkultur; ebenso die folgenden Stühle, während 3 Tage nach dem Aussetzen der Hefe-Tannalbin-Darreichung im Stuhlbilde die gramnegativen Bacillen wieder das Uebergewicht erlangen.

Pat. No. 25; 3 Monate, aufgenommen am 6. Okt. mit Gastroenteritis infolge Diätfehler (Verabreichung von Milch, Tee, verdünntem Branntwein, abwechselnd und in kurzen Zeitintervallen durch die Eltern — bis $\frac{1}{2}$ -stündlich), erhält 3-stündlich $\frac{1}{3}$ Milch: 5 Proz. Milchzuckerwasser und 3mal täglich 0,5 g Tannalbin plus $\frac{1}{2}$ Levurettin-tabletten. — Abends 40 ccm physiologische Kochsalzlösung subkutan.

Am 7. Okt. wegen plötzlicher Exazerbation des Enterokatarrrhs (ohne Temperatursteigerung): reines Milchzuckerwasser (3-proz.). — 40 ccm physiologische Kochsalzlösung und Kampfer subkutan; am Abend des gleichen Tages erfolgt der Exitus letalis unter den Symptomen einer alimentären Toxikose.

Stuhl am 7. Okt. früh: grün-schleimig, alkalisch, zeigt überwiegend gramnegative Bakterien (*B. coli*), wenige Kokken und grampositive Langstäbchen (*Bacillus perfringens*).

1) Arch. f. Hyg. Bd. XII. p. 1.

Bei der 1 Stunde post mortem gemachten Darmsektion werden aus dem Colon transversum (anaërobe) Zuckeragarkulturen angelegt; es wachsen *Bacillus bifidus* und (aërob) Hefen (*Levuretin*?); im Ausstrichpräparat aus dem flüssigen weißlich-gelben Inhalt des Colon ebenso wie im Coecum sind überwiegend dem *Bacillus bifidus* ähnliche Stäbchen.

Obige Fälle mögen zur Illustrierung der Wirkung der Hefetrockenpräparate genügen. Der Vollständigkeit halber seien noch 2 mit frischer Bierhefe angestellte Versuche angeführt.

Pat. No. VI; 4 Monate (Tracheobronchitis), aufgenommen am 13. Juli, erhält $\frac{1}{2}$ Milch:5-proz. Milchezuckerwasser; am 15. Juli alkalisch-lehmiger Stuhl mit gemischter Kuhmilchstuhlflora.

Vom 15.—20. Juli täglich 2mal $\frac{1}{2}$ Kaffeeöffel frischer Bierhefe (in Milchezuckerwasser)

" 21.—23. " " 3 " $\frac{1}{2}$ " " "

" 24.—26. " " 4 " $\frac{1}{2}$ " " "

" 27.—31. " " 5 " $\frac{1}{2}$ " " " (am 30. und 31. Juli außerdem noch 2mal 0,5 g Tannalbin); dann werden Hefe und Tannalbin ausgesetzt.

Bis zum 26. Juli hatte der Stuhl nur die gemischte Kuhmilchstuhlflora gezeigt; am 26. Juli enthält er neben der Kuhmilchstuhlflora zahlreiche *Bifidus*-Bacillen. Dieses Bakterienbild bleibt auch während der folgenden Tage bestehen.

Am 5. Aug. zeigt der etwas dünne, gelbe, schwach saure Stuhl eine überwiegende *Bacillus bifidus*-Flora. Die Kultur ergibt neben *Bacillus bifidus* auch Wachstum von *Bacillus acidophilus*.

Pat. No. V; 3 Monate (Tracheitis), aufgenommen am 27. Juli, erhält je 45 g Milch:60 g Reismehlabkochung mit 5 Proz. Milchezucker; der Stuhl bietet das Bild der gemischten Kuhmilchstuhlflora dar.

Vom 30. Juli an außer der gleichen Milchmischung täglich $\frac{1}{2}$ Kaffeeöffel frischer Bierhefe.

Stuhl am 31. Juli: gelb, lehmig, alkalisch mit gemischter Kuhmilchstuhlflora. — Morgenstuhl am 1. Aug.: wie vorher; außerdem einige Hefehäufen mit zahlreichen *Bifidus*-Bacillen. — Abendstuhl am 1. Aug.: gelb, schleimig, sauer; ähnliche Flora wie im Morgenstuhl, es finden sich aber mehr gramnegative Stäbchen (*B. coli*?) und viele Exemplare von *B. perfringens*. Gleicher Befund beim Morgenstuhl vom 2. Aug. Wegen dieser eingetretenen Dyspepsie wird die Hefe ausgesetzt.

Diese Fälle zeigen, daß es ebenfalls gelingt, mit der überall zu beschaffenden frischen Bierhefe eine Umstimmung des Bakterienbildes im Säuglingsstuhl hervorzurufen, daß aber die Hefemengen, die hierzu nötig sind, zu Dyspepsien Veranlassung geben können, wodurch ein schon erreichter Erfolg wieder illusorisch gemacht werden kann. — Im Gegensatz hierzu habe ich bei Anwendung der getrockneten Hefe-(Präparate) in den Dosen, wie sie zur Beeinflussung der Säuglingsdarmflora nötig sind, kaum je eine Reizung des Darmtraktes beobachtet. —

Keinen Einfluß auf die Flora des Säuglingsstuhles hatte die Darreichung von Hefe (ebenso wie von *Lactobacillin*) in einigen Fällen von Enteritis follicularis (s. u. Pat. No. 17 u. No. 15). —

Um auch eine aus Hefe rein dargestellte chemische Substanz auf ihre Wirkung gegenüber den Darmbakterien zu untersuchen, habe ich in 2 Fällen Cerolin-Milchezuckertabletten (à 0,025 Cerolin) gegeben:

Pat. No. 16; 9 Monate (Bronchopneumonie), aufgenommen am 2. Aug., erhält $\frac{1}{2}$ Milch:5 Proz. Rohrzuckerwasser und vom 3. bis 7. Aug. täglich 3 Cerolintabletten.

Bis zum 5. Aug. zeigt der gelblich-lehmige alkalische Stuhl das Bild der gemischten Kuhmilchstuhlflora; der am 7. Aug. entleerte Morgenstuhl (gelb-schleimig, sauer) zeigt außerdem im Ausstrich einzelne *Bacillus bifidus*-ähnliche Stäbchen, die tags darauf im Stuhle wieder verschwunden sind.

Pat. No. 7; 7 Wochen (akuter Hydrocephalus, Bronchopneumonie), aufgenommen am 3. Juli, erhält außer $\frac{1}{3}$ Milch:Reismehlabkochung mit 5 Proz. Milchezucker, bei normalem Stuhl vom 7. Juli bis zu dem am 15. Juli erfolgten Exitus letalis täglich 3 Cerolintabletten.

Am 6., 7. und 9. Juli zeigt ein Ausstrichpräparat des Stuhles gemischte Kuhmilchstuhlflora.

Vom 12. Juli an (bis zum Exitus) enthält der Stuhl vorwiegend Kokken (*Enterococcus*).

6 $\frac{1}{2}$ Stunden post mortem zeigt ein aus dem im Colon enthaltenen schleimig-kotigen Inhalte angefertigtes Ausstrichpräparat überwiegend Kokken und grampositive Stäbchen; auf Zuckeragar wachsen anaërob neben Enterokokken: *Bacillus exilis*, *Bacillus perfringens* und eine vereinzelte *Bacillus bifidus*-Kolonie (2. Verdünnung).

Es scheint sich nach diesen Befunden das Cerolin hinsichtlich seiner Wirkung auf die Zusammensetzung der Säuglingsdarmflora zur Hefe nicht direkt in Parallele setzen zu lassen.

Aus den vorhergehenden Beobachtungen ergibt sich der Schluß, daß es

einerseits in zahlreichen Fällen unschwer gelingt, mit einer angemessen zusammengesetzten künstlichen Nahrung beim Säugling eine Stuhlflora zu erzielen, die sich von der Stuhlflora des Brustkindes (*B. bifidus*-Flora) nur wenig oder fast gar nicht unterscheidet,

andererseits, daß wir mittels einiger, therapeutisch verabreichter Substanzen (*Acidum lacticum*, *Lactobacillin*, Hefe) in manchen Fällen in gleichem Sinne (einer Begünstigung des Wachstums von *B. bifidus*) auf die Stuhlflora einzuwirken oder das Auftreten der *Bifidus*-Flora zu beschleunigen vermögen,

mit anderen Worten, daß ein strenger Unterschied zwischen der physiologischen Stuhlflora (des Brustkindes) und der Kuhmilchstuhlflora nicht besteht.

II.

A. Unsere Kenntnisse über die Bakterienflora der einzelnen Abschnitte des Säuglingsdarmkanals im physiologischen wie im pathologischen Zustande sind noch verhältnismäßig geringe. Die hauptsächlichsten Untersuchungen über diese Flora stammen aus der Escherichschen Schule (Escherich, Moro l. c.), auf deren Arbeiten an dieser Stelle hingewiesen sei. Aus diesen Veröffentlichungen läßt sich für den natürlich (Frauenmilch) genährten darmgesunden Säugling ungefähr folgendes Schema für die einzelnen Darmabschnitte ableiten:

Der Dünndarm enthält besonders in seinen oberen und mittleren Abschnitten eine verhältnismäßig sehr geringe Anzahl von Bakterien und zwar überwiegend das *Bacterium lactis aërogenes* und das *Bacterium coli*. — In den untersten Ileumabschnitten tritt neben diesen Bakterien auch noch der *Bacillus bifidus communis* (Tissier) auf.

Im ganzen Colon beherrscht der *Bacillus bifidus* das Bakterienbild; daneben finden sich eine geringe Zahl von *Coli*-Bacillen.

Die absolute Zahl der vorhandenen Bakterien (welche im oberen Dünndarm eine minimale ist) nimmt im unteren Teile des Ileum sehr stark zu und findet sich im Inhalte des Coecum und Colon etwa in der gleichen Menge wie im Stuhle.

Diese relative Bakterienarmut der oberen Darmabschnitte, deren Ursachen noch nicht völlig geklärt sind¹⁾, (Bakterizidie der Galle?) geht bei Reizzuständen der Schleimhaut (Dyspepsien, Enterokatarre) ver-

1) Rolly und Liebermeister, Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXIII. 1905. p. 413.

loren [Moro¹⁾], so daß man beim darmkranken Kinde zumeist im ganzen Dünndarm eine ziemlich zahlreiche Bakterienflora vorfindet.

Die Untersuchungen dieser Verhältnisse bieten die eine Schwierigkeit, daß bei der auf Darmbakterien zu untersuchenden Leiche zur Erzielung eines genaueren Resultates möglichst kurz nach dem Tode die Darmsektion ausgeführt werden muß. Moro (l. c.) verlangt, daß die Zwischenzeit nicht mehr als etwa 3 Stunden betrage. — Bei den unten näher beschriebenen Untersuchungen wurden die Präparate und Kulturen aus dem Darminhalt der verschiedenen Abschnitte möglichst kurz nach dem Eintreten des Exitus letalis angefertigt. In einigen der untersuchten Fälle (die Zeit, welche zwischen Exitus und Darmuntersuchung verflossen war, ist in jedem einzelnen Falle angegeben) konnte die Untersuchung aus äußeren Gründen erst nach mehreren Stunden vorgenommen werden. Ich glaube aus den Befunden bei diesen letzteren Fällen den Eindruck gewonnen zu haben, daß (bei Säuglingen) in den ersten Stunden nach dem Tode zwar ein langsames weiteres Wachsen der im Darm schon vorhandenen Keime statthat, aber nur derart, daß die normalerweise schon in der Mehrzahl vorhandenen Bakterien auch das Uebergewicht behalten, während ein Ueberwuchern von in der Minderzahl vorhandenen oder zufällig von außen her eingeführten Keimen erst nach längerer Zeit zu erfolgen pflegt.

Das Bakterienbild der verschiedenen Abschnitte des Darmkanals künstlich genährter Säuglinge möchte ich nach meinen Untersuchungen als etwas verschieden von den Anschauungen der Escherichschen Schule angeben:

Das im Dünndarm überwiegende Bakterium scheint mir bei darmgesunden Säuglingen der *Enterococcus* zu sein; daneben findet sich in unverhältnismäßig geringerer Zahl das *Bacterium lactis aërogenes*, während *Bacterium coli* im oberen Dünndarm fast nicht gefunden wird.

Im Dickdarm findet sich je nach der Ernährung (und dem Befund im Stuhle) ein verschiedenes Bakterienbild: Gesunde Säuglinge zeigen im allgemeinen das gleiche Bakterienbild im Dickdarm (und den untersten Abschnitten des Ileum, nahe der Valvula ileo-coecalis), welches auch der Stuhl in den letzten Tagen ante mortem gezeigt hat, also bei Säuglingen mit überwiegender *Bifidus*-Stuhlflora auch ein Ueberwiegen des *Bacillus bifidus* im Dickdarm, bei anderen eine gemischte Dickdarmflora (Kuhmilchstuhlflora), deren hauptsächlichste Vertreter *B. bifidus*, *B. exilis*, *B. acidophilus*, *Enterococcus*, *B. coli*, *B. lactis aërogenes* und die Buttersäurebacillen zu sein scheinen.

Diese Bakterien der gemischten Stuhlflora finden sich in geringer Zahl natürlich ebenfalls da vor, wo der *Bacillus bifidus* überwiegt, sie finden sich aber auch, mit einziger Ausnahme (?) des *B. exilis* (Tissier) beim gesunden Brustkind (Tissier), dessen Stuhl ja nach den vorhergehenden Ausführungen keineswegs in Gegensatz zu dem Stuhl des künstlich ernährten Kindes gesetzt werden darf, weil eben die Uebergänge zwischen *Bifidus*- und gemischter sogenannter Kuhmilchstuhlflora ganz fließende und unmerkliche sind.

Den Bakteriengehalt der einzelnen Darmabschnitte beim darmgesunden Säugling fand ich folgendermaßen:

1) Arch. f. Kinderheilk. Bd. XLIII. p. 340.

Pat. No. 23 (s. o.), gestorben am 3. Okt. mit 3 1/2 Monaten (Sektionsdiagnose: Bronchopneumonie — nach Pertussis —; Darmsektion: geringe Schwellung der Follikel — überstandene frühere Dyspepsie — ohne Rötung der Schleimhaut).

Die bakteriologische Untersuchung des Darminhaltes wird 45 Minuten nach dem Exitus ausgeführt:

Befund: Im Anfangsteil des Jejunum: Inhalt: gallig gefärbter, schwach alkalischer Schleim.

Ein Ausstrichpräparat zeigt keine Bakterien.

Kulturelle Untersuchung: Auf Agar wachsen aerob: *B. lactis aërogenes*. Auf Agar anaërob (1. Verdünnung): *B. lactis aërogenes* und *Enterococcus*. Auf Traubenzuckeragar anaërob (2. Verdünnung): *Enterococcus* in Reinkultur.

In der Mitte des Dünndarms: Gleicher Inhalt wie im oberen Jejunum.

Ausstrichpräparat: Zeigt ebenfalls keine Bakterien.

Im untersten Ileum (ca. 10 cm oberhalb der Valvula ileocaecalis): Schwach alkalischer weißlich-gelblicher, schleimiger Inhalt.

Ausstrichpräparat: Sehr wenig Bakterien: Kokken¹⁾, gramnegative Kurzstäbchen (*B. lactis aërogenes*, *B. coli*?) und grampositive kurze, etwas plumpe Stäbchen (*B. exilis*?).

Kultur: aerob: Vorwiegend *B. lactis aërogenes*, außerdem *Enterococcus*, *Bacillus Lesage* [der grünen Diarrhöe²⁾] und *B. coli*; anaërob (in Traubenzuckeragar): vorwiegend *Enterococcus*, wenige Kolonien von *B. bifidus*, *B. acidophilus*, *B. exilis* und *B. lactis aërogenes*.

Im Coecum: Alkalischer Schleim mit Kotteilchen.

Ausstrichpräparat: Gemischte Bakterienflora mit vielen dem *B. bifidus* ähnlichen grampositiven Stäbchen.

In der Mitte des Colon transversum: Gleicher Inhalt wie im Coecum.

Ausstrich: Gleiches Bild wie im Coecum.

Kultur: aerob: *B. coli*, *B. Lesage* (*B. lactis aërogenes*?) und eine Hefeart; anaërob: *B. bifidus*, *B. exilis*, *Enterococcus*; vereinzelt *B. coli*.

Im Rectum: Alkalisch-lehmiger, gelblicher Stuhl.

Ausstrich: Gleiches Bild wie im Coecum.

Ich möchte gleich hier hervorheben, daß im Jejunum schon in der 2. Verdünnung das *B. lactis aërogenes*, daß ferner das ebenfalls in jedem Darm vorhandene *B. coli* nur erst im unteren Ileum und im Colon aufzutreten scheint und daß es da im Vergleich zu den anderen gefundenen Bakterien ebenfalls stark zurücktritt. Die quantitative Beurteilung nach kulturellen Untersuchungen wird beim *B. coli* und beim *B. lactis aërogenes* besonders dadurch erschwert, daß diese Bakterien auf den gebräuchlichen Nährböden ungleich viel üppiger wachsen als die übrigen Darmbakterien, und deshalb durch ihr Ueberwuchern leicht ein zahlreicheres Vorkommen vorzutäuschen vermögen.

Der *Enterococcus* (Thiercelin), schon von Escherich als *Micrococcus ovalis* beschrieben, ist eines der von fast allen Autoren im normalen Säuglingsstuhle vorgefundenen Darmmikroben; seine Bedeutung ist vielleicht auch deshalb unterschätzt worden, weil er in aeroben Kulturen meist von *B. coli* oder *B. lactis aërogenes* überwuchert zu werden pflegt. Ein von Hirsch und Libbmann gefundener *Streptococcus* (*Str. enteritidis*) ist nach Thiercelin und anderen Autoren identisch mit dem *Enterococcus*, eine Ansicht, die von Tissier bestritten wird. Man findet allerdings manchmal im Säuglingsstuhle neben den typischen Enterokokken einen *Streptococcus*, der sich vom *Enterococcus* hauptsächlich dadurch unterscheidet, daß er die Milch weniger schnell säuert, während seine Kolonien auf den gebräuchlichen Nährböden sich im makroskopischen Aussehen kaum von denen des *Enterococcus* unterscheiden (vielleicht einmal etwas kleiner

1) Als „Kokken“ sind auch im folgenden grampositive, meist in Diplo-Form gelagerte (Entero-)Kokken bezeichnet.

2) Eine pathogene Bedeutung kommt diesem *Bacillus* nicht zu.

loren [Moro¹⁾], so daß man beim darmkranken Kinde zumeist im ganzen Dünndarm eine ziemlich zahlreiche Bakterienflora vorfindet.

Die Untersuchungen dieser Verhältnisse bieten die eine Schwierigkeit, daß bei der auf Darmbakterien zu untersuchenden Leiche zur Erzielung eines genaueren Resultates möglichst kurz nach dem Tode die Darmsektion ausgeführt werden muß. Moro (l. c.) verlangt, daß die Zwischenzeit nicht mehr als etwa 3 Stunden betrage. — Bei den unten näher beschriebenen Untersuchungen wurden die Präparate und Kulturen aus dem Darminhalt der verschiedenen Abschnitte möglichst kurz nach dem Eintreten des Exitus letalis angefertigt. In einigen der untersuchten Fälle (die Zeit, welche zwischen Exitus und Darmuntersuchung verflossen war, ist in jedem einzelnen Falle angegeben) konnte die Untersuchung aus äußeren Gründen erst nach mehreren Stunden vorgenommen werden. Ich glaube aus den Befunden bei diesen letzteren Fällen den Eindruck gewonnen zu haben, daß (bei Säuglingen) in den ersten Stunden nach dem Tode zwar ein langsames weiteres Wachsen der im Darm schon vorhandenen Keime statthat, aber nur derart, daß die normalerweise schon in der Mehrzahl vorhandenen Bakterien auch das Uebergewicht behalten, während ein Ueberwuchern von in der Minderzahl vorhandenen oder zufällig von außen her eingeführten Keimen erst nach längerer Zeit zu erfolgen pflegt.

Das Bakterienbild der verschiedenen Abschnitte des Darmkanals künstlich genährter Säuglinge möchte ich nach meinen Untersuchungen als etwas verschieden von den Anschauungen der Escherichschen Schule angeben:

Das im Dünndarm überwiegende Bakterium scheint mir bei darmgesunden Säuglingen der *Enterococcus* zu sein; daneben findet sich in unverhältnismäßig geringerer Zahl das *Bacterium lactis aërogenes*, während *Bacterium coli* im oberen Dünndarm fast nicht gefunden wird.

Im Dickdarm findet sich je nach der Ernährung (und dem Befund im Stuhle) ein verschiedenes Bakterienbild: Gesunde Säuglinge zeigen im allgemeinen das gleiche Bakterienbild im Dickdarm (und den untersten Abschnitten des Ileum, nahe der *Valvula ileo-coecalis*), welches auch der Stuhl in den letzten Tagen ante mortem gezeigt hat, also bei Säuglingen mit überwiegender *Bifidus*-Stuhlflora auch ein Ueberwiegen des *Bacillus bifidus* im Dickdarm, bei anderen eine gemischte Dickdarmflora (Kuhmilchstuhlflora), deren hauptsächlichste Vertreter *B. bifidus*, *B. exilis*, *B. acidophilus*, *Enterococcus*, *B. coli*, *B. lactis aërogenes* und die Buttersäurebacillen zu sein scheinen.

Diese Bakterien der gemischten Stuhlflora finden sich in geringer Zahl natürlich ebenfalls da vor, wo der *Bacillus bifidus* überwiegt, sie finden sich aber auch, mit einziger Ausnahme (?) des *B. exilis* (Tissier) beim gesunden Brustkind (Tissier), dessen Stuhl ja nach den vorhergehenden Ausführungen keineswegs in Gegensatz zu dem Stuhl des künstlich ernährten Kindes gesetzt werden darf, weil eben die Uebergänge zwischen *Bifidus*- und gemischter sogenannter Kuhmilchstuhlflora ganz fließende und unmerkliche sind.

Den Bakteriengehalt der einzelnen Darmabschnitte beim darmgesunden Säugling fand ich folgendermaßen:

1) Arch. f. Kinderheilk. Bd. XLIII. p. 340.

Pat. No. 23 (s. o.), gestorben am 3. Okt. mit 3½ Monaten (Sektionsdiagnose: Bronchopneumonie — nach Pertussis —; Darmsektion: geringe Schwellung der Follikel — überstandene frühere Dyspepsie — ohne Rötung der Schleimhaut).

Die bakteriologische Untersuchung des Darminhaltes wird 45 Minuten nach dem Exitus ausgeführt:

Befund: Im Anfangsteil des Jejunum: Inhalt: gallig gefärbter, schwach alkalischer Schleim.

Ein Ausstrichpräparat zeigt keine Bakterien.

Kulturelle Untersuchung: Auf Agar wachsen *aërob*: *B. lactis aërogenes*. Auf Agar *anaërob* (1. Verdünnung): *B. lactis aërogenes* und *Enterococcus*. Auf Traubenzuckeragar *anaërob* (2. Verdünnung): *Enterococcus* in Reinkultur.

In der Mitte des Dünndarms: Gleicher Inhalt wie im oberen Jejunum.

Ausstrichpräparat: Zeigt ebenfalls keine Bakterien.

Im untersten Ileum (ca. 10 cm oberhalb der Valvula ileocaecalis): Schwach alkalischer weißlich-gelblicher, schleimiger Inhalt.

Ausstrichpräparat: Sehr wenig Bakterien: Kokken¹⁾, gramnegative Kurzstäbchen (*B. lactis aërogenes*, *B. coli*?) und grampositive kurze, etwas plumpe Stäbchen (*B. exilis*?).

Kultur: *aërob*: Vorwiegend *B. lactis aërogenes*, außerdem *Enterococcus*, *Bacillus Lesage* [der grünen Diarrhöe²⁾] und *B. coli*; *anaërob* (in Traubenzuckeragar): vorwiegend *Enterococcus*, wenige Kolonien von *B. bifidus*, *B. acidophilus*, *B. exilis* und *B. lactis aërogenes*.

Im Coecum: Alkalischer Schleim mit Kotteilchen.

Ausstrichpräparat: Gemischte Bakterienflora mit vielen dem *B. bifidus* ähnlichen grampositiven Stäbchen.

In der Mitte des Colon transversum: Gleicher Inhalt wie im Coecum.

Ausstrich: Gleiches Bild wie im Coecum.

Kultur: *aërob*: *B. coli*, *B. Lesage* (*B. lactis aërogenes*?) und eine Hefefart; *anaërob*: *B. bifidus*, *B. exilis*, *Enterococcus*; vereinzelt *B. coli*.

Im Rectum: Alkalisch-lehmiger, gelblicher Stuhl.

Ausstrich: Gleiches Bild wie im Coecum.

Ich möchte gleich hier hervorheben, daß im Jejunum schon in der 2. Verdünnung das *B. lactis aërogenes*, daß ferner das ebenfalls in jedem Darm vorhandene *B. coli* nur erst im unteren Ileum und im Colon aufzutreten scheint und daß es da im Vergleich zu den anderen gefundenen Bakterien ebenfalls stark zurücktritt. Die quantitative Beurteilung nach kulturellen Untersuchungen wird beim *B. coli* und beim *B. lactis aërogenes* besonders dadurch erschwert, daß diese Bakterien auf den gebräuchlichen Nährböden ungleich viel üppiger wachsen als die übrigen Darmbakterien, und deshalb durch ihr Ueberwuchern leicht ein zahlreicheres Vorkommen vorzutäuschen vermögen.

Der *Enterococcus* (Thiercelin), schon von Escherich als *Micrococcus ovalis* beschrieben, ist eines der von fast allen Autoren im normalen Säuglingsstühle vorgefundenen Darmmikroben; seine Bedeutung ist vielleicht auch deshalb unterschätzt worden, weil er in *aëroben* Kulturen meist von *B. coli* oder *B. lactis aërogenes* überwuchert zu werden pflegt. Ein von Hirsch und Libbmann gefundener *Streptococcus* (*Str. enteritidis*) ist nach Thiercelin und anderen Autoren identisch mit dem *Enterococcus*, eine Ansicht, die von Tissier bestritten wird. Man findet allerdings manchmal im Säuglingsstühle neben den typischen Enterokokken einen *Streptococcus*, der sich vom *Enterococcus* hauptsächlich dadurch unterscheidet, daß er die Milch weniger schnell säuert, während seine Kolonien auf den gebräuchlichen Nährböden sich im makroskopischen Aussehen kaum von denen des *Enterococcus* unterscheiden (vielleicht einmal etwas kleiner

1) Als „Kokken“ sind auch im folgenden grampositive, meist in Diplo-Form gelagerte (Entero-)Kokken bezeichnet.

2) Eine pathogene Bedeutung kommt diesem *Bacillus* nicht zu.

sind). Aber diese Unterschiede sind nicht derart, daß man sie für eine strenge Trennung zwischen beiden Arten ins Feld führen könnte. Uebrigens hat auch auch Kruse¹⁾ den Hirsch-Libbmannschen Streptococcus mit dem Enterococcus für identisch und dieses Bakterium, das er mit dem Namen Streptococcus lacticus belegt hat, als zur Gruppe der Milchsäurebakterien gehörend anerkannt.

Dieser Ansicht von Kruse möchte ich nach meinen Befunden beistimmen; der Enterococcus ist nach Form, Wachstum und chemischen Leistungen zum mindesten sehr nahe verwandt, wenn nicht identisch mit dem Streptococcus acidilactici Lehmann-Neumann (Streptococcus lacticus Kruse, Streptococcus Güntheri, Bacterium Güntheri). — Der Streptococcus acidilactici scheint nach neueren Untersuchungen [Lehmann-Neumann²⁾, Kirchner³⁾] verglichen mit dem B. lactis aërogenes „der wichtigste Milchsäurebildner in der Milch zu sein“. — Man findet den Enterococcus schon sehr früh im Stuhle des Säuglings, ich habe ihn im Mekonium eines 24 Stunden alten Kindes (das noch keine Nahrung erhalten hatte) in Reinkultur nachweisen können, zu einer Zeit, wo sich noch keine Coli-Bakterien vorfinden.

Auch bei Brustkindern findet sich der Enterococcus im Dünndarm (cf. auch die Befunde von Moro):

Pat. No. 2; Brustkind, gestorben mit 11 Monaten (Sektionsdiagnose: Tuberculosis pulmonum, Malum Pottii). Pat. hat die 2 letzten Tage ante mortem fast keine Nahrung zu sich genommen.

Bakteriologische Darmuntersuchung, 3 Stunden post mortem vorgenommen; außer B. coli findet sich:

Unteres Ileum: In dem in geringer Menge vorhandenen gelblichen, alkalischen wandständigen Schleim: Enterokokken und zahlreiche Exemplare von B. perfringens (unbeweglicher, dimorpher Buttersäurebacillus Grassberger-Schattenfroh).

Im Colon ascendens (Mitte) (ebenfalls frei von Faeces; an der Darmoberfläche haftender alkalischer Schleim): B. perfringens, Enterococcus und B. bifidus.

Der Stuhl hatte Bacillus bifidus fast in Reinkultur enthalten.

Dieser Befund weicht von dem oben gegebenen Schema insofern ab, als im Dünndarm sich außer dem Enterococcus noch ein anderes Bakterium, der B. perfringens⁴⁾, vorfand. Der Grund hierfür liegt einerseits darin, daß sich die untersuchte Stelle des Dünndarmes nahe der Klappe befand, wo, wie schon hervorgehoben, die Bakterienflora des Dün- und Dickdarmes sich zu verwischen pflegt. Andererseits muß besonders hervorgehoben werden, daß in diesem Falle (Pat. No. 2) es sich nicht um eine Untersuchung des Darminhaltes handeln konnte (der Darm war infolge der fehlenden Nahrungsaufnahme leer), sondern wir haben es hier mit der Flora des wandständigen Darmschleimes zu tun, die keineswegs identisch zu sein braucht mit der des Darminhaltes. Im Gegenteil scheint mir die Annahme berechtigt zu sein, daß wir im Darm (des Säuglings) ebenso eine Flora des verhältnismäßig schnell zirkulierenden Inhaltes und eine Flora der der Schleimhaut anhaftenden dünnen alkalischen Schleimschicht unterscheiden

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 737.

2) Atlas u. Grundriß der Bakt. 4. Aufl. München 1907.

3) Milchwirtschaft. Berlin (P. Parey) 1907.

4) Die Bezeichnung als B. perfringens (Veillon und Zuber) für den dimorphen unbeweglichen Buttersäurebacillus (Grassberger und Schattenfroh) ist der Einfachheit halber im folgenden beibehalten.

müssen, wie wir von einer Flora der oberen (Dünndarm) und der unteren Darmpartien (Dickdarm) sprechen. Und als einen konstanten Bewohner dieser Schleimschicht über der Darmwand, wenigstens in den untersten Dünndarmabschnitten, und im Dickdarm glaube ich den *B. perfringens* ansprechen zu müssen, dessen „regelmäßiges“ Vorkommen im „normalen“ Stuhle des natürlich und künstlich ernährten Säuglings (Passini¹⁾) erwiesen hat. Der Uebergang zwischen Flora des Darminhaltes und wandständiger (*B. perfringens*-)Darmflora ist ebenfalls ein ganz fließender. Auf das Vorkommen des *B. perfringens* in pathologischen Fällen soll weiter unten noch eingegangen werden. Das Ueberwuchern anderer Bakterien (*B. acidophilus*, *Enterococcus* u. a.) bei den Stuhlkulturen und die ziemlich mühevoll Reinzüchtung aus diesen Kulturen in hoher Zuckeragarschicht erklärt vielleicht den Umstand, warum der *B. perfringens* von den früheren Autoren (z. B. Tissier, Rivet) so oft übersehen worden ist (cf. oben das über *B. perfringens* bei der „blauen Bacilliose“ Gesagte). —

Im Anschluß hieran seien die Resultate einiger anderer bakteriologischer Darmuntersuchungen angeführt, bei denen zum Teil ebenfalls der Unterschied zwischen der Flora des Darminhaltes und der wandständigen Schleimhautschicht (bei leerem Darm) in die Augen fällt.

Pat. No. 6 (s. o.), gestorben am 9. Juli mit 3 Monaten (Sektionsdiagnose: Bronchopneumonie; Darmtraktus normal).

Stuhl enthielt in den letzten Tagen ante mortem überwiegend *Bacillus bifidus*.

Darmuntersuchung: 15 Minuten post mortem:

Oberes Jejunum: Wenig dünner, saurer Schleim (Wandschleim).

Ausstrichpräparat: Zeigt sehr wenig Bakterien, überwiegend *B. perfringens*-ähnliche, weniger Kokken und ganz vereinzelt gramnegative Kurzstäbchen.

Kultur: aerob: *B. lactis aërogenes* (und *B. coli*?); anaerob: *B. perfringens*, *Enterococcus*, *B. exilis*?

Unteres Ileum: Kothaltiger, schwach alkalischer Schleim.

Ausstrichpräparat: Ueberwiegend Kokken (*Enterococcus*), gramnegative Kurzstäbchen (*B. coli*) und wenige grampositive, dem *B. perfringens* ähnliche Stäbchen.

Colon ascendens: Dünner, alkalischer Schleim.

Ausstrichpräparat: Zahlreiche grampositive kleinere (*B. bifidus*) und einzelne größere (*B. perfringens*) Stäbchen; Kokken; gramnegative Vibrionen und einige gramnegative Kurzstäbchen (*B. coli*, *B. lactis aërogenes*).

Kultur: aerob: *B. coli*, *B. lactis aërogenes* und weiße Hefe; anaerob: *Enterococcus*, *B. bifidus*, *B. perfringens*.

Rectum: Alkalischer Schleim.

Ausstrichpräparat: Kokken (*Enterococcus*); größere (*B. perfringens*) und kleinere (*B. bifidus*) grampositive, gramnegative (*B. coli*) Stäbchen; gramnegative Vibrionen.

Von einer Isolierung der gefundenen Vibrionen, die ich (ebenso wie schon früher andere Autoren) in zahlreichen normalen wie diarrhöischen Stühlen gesehen habe, wurde abgesehen, nachdem einige daraufhin gerichtete (kulturelle) Versuche ergebnislos verlaufen waren.

Pat. No. 12 (Buttermilchkind), gestorben am 28. Juli mit 8½ Monaten (Sektionsdiagnose: Bronchopneumonie post morbillus; Darmtraktus: Dünndarm normal, Dickdarm zeigt geringe Schwellung der Follikel — abgelaufene Dyspepsie).

Stuhl zeigte in den letzten Tagen ante mortem gemischte Kuhmilchstuhlflora; Stuhlkultur vom 26. Juli: *B. coli*, *B. perfringens*, *Enterococcus*, fusiforme Bacillen (s. u.).

Darmuntersuchung: 2 Stunden post mortem:

Oberes Jejunum: Schwach saurer, gelblicher, schleimiger Inhalt.

Ausstrich: Ganz vereinzelte Kokken.

Kultur: *Enterococcus*, *B. lactis aërogenes* (*B. coli*?).

Unteres Ileum: Gelb-grünlicher, saurer, schleimiger Inhalt.

Ausstrich: Ueberwiegend Kokken, viele gramnegative kurze (*B. coli*) und einige grampositive größere Stäbchen (*B. perfringens*).

Colon ascendens: Schwach alkalischer, gelblicher Schleim.

Ausstrich: Kokken, gramnegative Kurzstäbchen (*B. coli*), grampositive kürzere und längere (*B. perfringens*) Stäbchen.

Kultur: *B. coli*, *Enterococcus*, *B. perfringens*, *B. bifidus* (1 Kolonie in der 2. Verdünnung).

Colon transversum: Schwach saurer, klarer Schleim.

Ausstrichpräparat: Kokken, wenige gramnegative Vibrionen (s. o.), zahlreiche grampositive Langstäbchen (*B. perfringens*) und viele gramnegative Stäbchen (*B. coli*).

Pat. No. 19 (s. o.); gestorben am 18. Aug. mit 9 $\frac{1}{2}$ Monaten (Sektionsdiagnose: Atrophie, Bronchopneumonie, Follikelschwellung — mäßig — des Dünn- und Dickdarmes).

Stuhl hatte in den letzten Tagen ante mortem sehr viele Exemplare von *B. bifidus* (neben gemischter Kuhmilchstuhlflora enthalten).

Darmuntersuchung: 2 Stunden post mortem:

Oberes Jejunum: Alkalischer, gelblicher Schleim (Wandschleim).

Ausstrich: Fast keine Bakterien sichtbar, nur einzelne Kokken (*Enterococcus*), ganz vereinzelte grampositive (*B. exilis*) und gramnegative (*B. lactis aërogenes*) Kurzstäbchen.

Mittlerer Dünndarm: Gleicher Inhalt wie vorher.

Ausstrich: Zeigt wenig Bakterien, längere (*B. perfringens*) und kürzere (*B. exilis*) grampositive Stäbchen und einzelne gramnegative Stäbchen (*B. lactis aërogenes*, *B. coli*).

Unteres Ileum: makroskopisch: Gleicher Inhalt.

Ausstrichpräparat: Sehr wenig Bakterien, vorwiegend längere grampositive Stäbchen (*B. perfringens*), einzelne grampositive (*B. exilis*) und gramnegative Kurzstäbchen (*B. coli*).

Kultur: *B. coli*, *B. exilis*, *B. perfringens*, *Enterococcus*.

Coecum: Dünne, gelbschleimige, alkalische Faecesmassen.

Ausstrich: Zeigt das gemischte Bild der Kuhmilchstuhlflora, darunter viele *Bacillus bifidus*-ähnliche.

Colon transversum: Gelber, alkalischer, schleimiger Inhalt.

Ausstrich: Wie im Coecum.

Pat. No. 3 (Ernährung mit $\frac{1}{2}$ Milch: Reismehl mit 5 Proz. Milchzucker), gestorben mit 5 Monaten (Sektionsdiagnose: Bronchopneumonie nach Pertussis; keine Darmaffektion).

Darmuntersuchung: 45 Minuten post mortem:

Oberes Jejunum: Wenig alkalischer Schleim.

Ausstrich: Enthält fast keine Bakterien, einzelne Kokken (*Enterococcus*) und grampositive Kurzstäbchen.

Unteres Ileum: Alkalischer (wandständiger) Schleim.

Ausstrich: Grampositive lange Stäbchen (*B. perfringens*) fast in Reinkultur.

Coecum: Lehmiger alkalischer Kot.

Ausstrich: Zeigt das Bild der gemischten „Kuhmilchstuhlflora“. Ein Ausstrichpräparat vom alkalischen, an der Coecuminnenwand haftenden Schleim enthält neben der gemischten Kuhmilchstuhlflora überwiegend dem *B. perfringens* ähnliche Stäbchen.

Colon ascendens: Dünne schleimige, alkalische Faeces.

Ausstrichpräparat: Kuhmilchstuhlflora mit vielen dem *B. perfringens* ähnlichen Stäbchen.

Rectum: Dünner, lehmiger Stuhl.

Ausstrich: Typisches Bild der Kuhmilchstuhlflora.

Bei der später als 3 Stunden post mortem erfolgenden Untersuchung der Säuglingsdarmflora habe ich nur eine quantitative Aenderung (Vermehrung der schon vorhandenen Bakterien) der oben beschriebenen Befunde gesehen; ein Ueberwuchern der im Säuglingsdarm in der Minderzahl vorhandenen Bakterien (*B. coli*) oder von zufällig eingewanderten Fäulniserreger scheint mir (bei

Konservierung der Leiche in der Kälte) vor Ablauf von mindestens 12 Stunden nicht einzutreten.

Pat. No. 16 (s. o.); gestorben am 13. Aug. mit 9 1/2 Monaten (Sektionsdiagnose: Bronchopneumonie; Darm frei).

In den letzten Tagen ante mortem entleerter Stuhl enthielt gemischte Kuhmilchstuhlfloora.

Darmuntersuchung: 6 Stunden post mortem:

Oberes Jejunum: Kokken, grampositive (*B. exilis*) und vereinzelte gramnegative Kurzstäbchen.

Mitte Dünndarm: Kokken, grampositive Langstäbchen (*B. perfringens*), gramnegative Kurzstäbchen (*B. coli*, *B. lactis aërogenes*?).

Unteres Ileum: Gemischte Kuhmilchstuhlfloora.

Caecum: Ebenso.

Colon transversum: Ebenso, mit vielen gramnegativen Kurzstäbchen (*B. coli*).

Pat. No. 7 (s. o.); gestorben am 15. Juli mit 9 Wochen (Sektion: Hydrocephalus internus; Bronchopneumonie; Darm frei).

Stuhl hatte ante mortem vorwiegend Kokken (*Enterococcus*) enthalten.

Darmuntersuchung: 6 1/2 Stunden post mortem:

Oberes Jejunum: Schwach alkalischer, schleimiger Inhalt.

Ausstrich: Viele Kokken (*Enterococcus*), einige kurze grampositive Stäbchen und vereinzelte gramnegative Kurzstäbchen.

Unteres Ileum: Alkalische, lehmige Faeces.

Ausstrich: Viele Kokken, kurze grampositive Stäbchen und vereinzelte gramnegative Kurzstäbchen (*B. coli*).

Kultur: aërob: *B. coli*; anaërob: *Enterococcus* und *B. exilis*.

Colon ascendens: Alkalische, schleimige Faeces.

Ausstrich: Viele Kokken, kurze grampositive Stäbchen, einzelne lange (Fäden bildende) grampositive Bacillen.

Kultur: aërob: *B. coli* und *Enterococcus*; anaërob: *Enterococcus* und *B. exilis*, *B. perfringens*, *B. bifidus* (1 Kolonie in der 2. Verdünnung); außerdem in der 1. Verdünnung ein fusiformer gramnegativer Bacillus (*Corynebacterium fusiforme* Lehmann u. Neumann? — in mit auf den Nährboden — tiefe Agarschicht — übertragenen Darmschleimpartikeln gewachsen).

Rectum: Schwach alkalischer Schleim.

Ausstrich: Zahlreiche Kokken und kurze (wenige längere) grampositive Stäbchen, wenige gramnegative Stäbchen (*B. coli*).

In diesen Fällen glaube ich wegen des qualitativen Uebereinstimmens ihrer Flora mit den Untersuchungen, die kürzere Zeit nach dem Tode stattfanden (s. o.), die gleiche Zusammensetzung der Darmflora wie in diesen letzteren sehen zu müssen, worin mich auch ein anderer 13 Stunden nach dem Tode erhobener Befund zu bestärken scheint.

Pat. No. 1 (s. o.); gestorben am 16. Juli mit 2 Monaten (Sektionsdiagnose: Atrophie; Bronchopneumonie; Darm frei).

Stuhl hatte in den 2 letzten Tagen ante mortem überwiegend *B. bifidus* enthalten.

Die Ausstriche des Dünndarminhaltes zeigen überwiegend Kokken (*Enterococcus*), die des Dickdarmes überwiegend den *B. bifidus*. Gramnegative Stäbchen (*B. lactis aërogenes*, *B. coli*) finden sich nur in verschwindender Anzahl.

Aus den obigen Befunden möchte ich folgendes Bakterienbild für die Zusammensetzung der Flora des normalen Säuglingsdarmes aufstellen (die bei einigen Sektionsbefunden vermerkte leichte Follikelschwellung des Darmes ohne jede Spur von einer Rötung seiner Schleimhaut ist darauf zurückzuführen, daß die betreffenden Patienten längere Zeit zuvor dyspeptische Erscheinungen geboten hatten, deren Einfluß auf die Funktion des Darmtraktes und seine Flora aber gänzlich vorübergegangen waren, wie der normale Ablauf der Ernährung und der Verdauung bewies):

Der Dünndarm ist bis auf seinen untersten Abschnitt sehr keimarm; das hauptsächlichste Bakterium des Dünndarm-inhaltes ist der *Enterococcus*; neben dem *Enterococcus* findet sich in geringerer Zahl der *B. exilis* Tissier und in vereinzelt Exemplaren das *B. lactis aërogenes*. — Die an der Dünndarminnenwand haftende dünne (alkalische) Schleimhautschicht beherbergt den *B. perfringens* in zunehmender Zahl, je tieferliegende Teile des Dünndarmwandschleimes untersucht werden.

Der unterste Teil des Dünndarmes (10–20 cm oberhalb der *Valvula ileocaecalis*) zeigt den Uebergang der Dünndarm- zur Dickdarmflora: Vermehrung der normalen Dünndarmbakterien; Auftreten neuer Arten: *B. bifidus* neben Enterokokken und *B. exilis*, einige Exemplare von *B. perfringens*, wenige acidophile Bakterien und *B. lactis aërogenes*, vereinzelt Colibakterien, im Inhalte. Ueberwiegen des *B. perfringens* im wandständigen Schleim.

Im Dickdarm herrscht die gleiche Flora, wie eben beschrieben, und es beginnt hier das *Bacterium coli*, ohne jedoch im Ausstrichpräparat in besonders großer Zahl sich zu finden, etwas stärker aufzutreten; daneben kommen vereinzelt noch sehr zahlreiche andere Mikroorganismen, z. B. *B. Lesage*, fusiforme Bacillen, *Vibrio*-nen, Hefen u. a. vor (cf. auch Tissier), die aber nur eine sehr untergeordnete Rolle zu spielen scheinen.

In denjenigen Fällen, wo es in der Stuhlflora zu einem Ueberwiegen des *B. bifidus* gekommen ist, zeigt auch die Flora des unteren Ileums und des Dickdarmes im Ausstrich vorwiegend den *Bacillus bifidus*, während die anderen genannten Bakterien daneben ganz in den Hintergrund treten. Beim Bilde der gemischten „Kuhmilchstuhlflora“ tritt der *Bacillus bifidus* neben der übrigen Dickdarmflora zurück.

In der normalen Darmflora scheinen mir nach den mitgeteilten Untersuchungen die „obligaten Milchkotbakterien“ Escherichs (*B. lactis aërogenes*, *B. coli*) nicht die große Rolle zu spielen, die ihnen früher zugeschrieben wurde; ich möchte sie nur als Parasiten ansprechen, die für den normalen Säuglingsdarm (dem *Enterococcus*, *B. bifidus* und *B. perfringens* gegenüber) von sekundärer Bedeutung sind.

Beim Neugeborenen glaube ich ebenfalls ein analoges Darmbakterienbild gefunden zu haben:

Pat. No. 10; gestorben am 23. Juli, 36 Stunden nach der Geburt (Sektionsdiagnose: Beiderseitige hämorrhagische Pleuritis, septische Pneumonie des rechten Mittel- und Unterlappens — Mutter ante partum an Sepsis erkrankt; Darmtraktus frei.)

Pat., der keine Nahrung zu sich genommen hat (angebotenes Milchzuckerwasser wurde verweigert), hat 24 Stunden nach der Geburt Mekonium entleert.

Ausstrichpräparat des Mekoniums: Zahlreiche Diplokokken (grampositiv), viele längere (teilweise zu Fäden angeordnete) und kürzere grampositive Stäbchen (*B. perfringens*); grampositive Bakterien mit endständiger (trommelschlegelförmig) Spore (*B. perfringens*); einige gramnegative Kurzstäbchen (*B. coli*).

Kultur: *B. coli*, *Enterococcus*, *B. perfringens*.

Darmuntersuchung: 8 Stunden post mortem ausgeführt zeigt folgenden bakteriologischen Befund:

Oberes Jejunum: Gelblicher, schwach saurer Schleim.

Ausstrich: Wenig Bakterien; grampositive Kurzstäbchen, einzelne längere grampositive Stäbchen und Kokken.

Kultur: *B. coli*, *Enterococcus* und *B. perfringens*.

Unteres Ileum: Grünlicher, schwach saurer Schleim.

Ausstrich: Zahlreiche Bakterien; Kokken, kürzere und längere grampositive Stäbchen, vereinzelte gramnegative Stäbchen.

Kultur: *B. coli*, *Enterococcus*, *B. perfringens*.

Coecum: Grüner, alkalischer Schleim.

Ausstrich: Kokken, kürzere und längere grampositive Stäbchen (*B. perfringens*), dünne grampositive Bacillen, zum Teil mit endständiger Spore (trommelschlegelförmig), gramnegative Kurzstäbchen (*B. coli*).

Colon transversum (Mitte): weiß-gelblicher, schwach alkalischer Schleim.

Ausstrich: Wenig Bakterien; Kokken, kürzere und längere grampositive Stäbchen (*B. perfringens*).

Kultur: *B. coli*, *Enterococcus*, *B. perfringens*.

Im Anschluß sei noch der bakterielle Befund bei Untersuchung des Mekoniums von einem anderen Falle erwähnt, wo ich im ersten, nach 24 Stunden entleerten Mekonium im Ausstrichpräparat keine Bakterien fand, während bei Züchtung Enterokokken in Reinkultur wuchsen. Das später entleerte Mekonium zeigte im Ausstrich außer Kokken grampositive Langstäbchen von verschiedener Stärke (teilweise zu Fäden angeordnet); kulturell wuchs außer Enterokokken der *B. perfringens*, aber (ebenso wie im vorher entleerten Mekonium) noch kein *B. coli*.

Es sei hier besonders darauf aufmerksam gemacht, daß Grassberger und Schattenfroh¹⁾ in ihrer IV. Abhandlung über Buttersäuregärung auf die starke Variabilität bezüglich der Morphologie und der chemischen Leistungen des dimorphen unbeweglichen Buttersäurebacillus (*B. perfringens*) hingewiesen haben. Speziell Fig. 6 aus der erwähnten Abhandlung, wo Individuen aus einer 48-stündigen „anaerob gehaltenen Stichkultur in alkalischem Agar“ (einem dem Buttersäurebacillus weniger zusagenden Nährboden) zur Abbildung gebracht sind (darunter Kurzstäbchen und Langstäbchen von verschiedener Stärke, sporenhaltige Stäbchen mit end- und mittelständigen Sporen), erinnert direkt an Bakterienbilder, wie wir sie im Mekonium und auch öfters im Stuhle des künstlich genährten Säuglings antreffen.

Die oben gegebene Zusammensetzung der Flora des Säuglingsdarmes kann nach diesen zuletzt erwähnten Befunden dahin ergänzt werden, daß im Darmtraktus des Neugeborenen der *Enterococcus* und der *B. perfringens* zuerst auftreten, während der *B. bifidus* und die übrigen Milchkotbakterien (*B. coli* u. a.) erst später, mit dem Durchwandern der eingeführten Nahrung durch den Darmkanal, im Darminhalt sich zu etablieren beginnen.

B. Dyspepsieen. Die Flora des Säuglingsdarmes in seinen pathologischen Zuständen bietet gegenüber der des normalen Darmkanales insofern wesentliche Verschiedenheiten dar, als einmal die normalerweise bestehende Keimarmut des Dünndarmes verloren geht (Moro, l. c.) und andererseits Bakterien in den Vordergrund treten, die im normalen Darm nur in geringer Zahl vorhanden waren oder von außen eindringende Krankheitskeime die vorherrschenden werden. Diese zuletzt erwähnten spezifischen (exogenen) Infektionen des Darmkanales (bei Säuglingen kommen in unseren Gegenden vorwiegend Typhus, Dysenterie, Streptokokkenenteritis²⁾ in Frage) sollen hier nicht besprochen werden, während ich die sogenannte Sommerdiarrhöe (trotz vieler Be-

1) Arch. f. Hygiene. Bd. LX. 1907.

2) Cf. Nobécourt. P., Les streptococcies intestinales. (La Presse méd. 1903. No. 77 u. 79. Literatur.) — Jehle, Ueber die Streptokokkenenteritis und ihre Komplikationen. (Jahrb. f. Kinderheilk. Ergänzungsheft zu Bd. LXV. 1907. p. 40. Literatur.)

rührungspunkte mit den exogenen Infektionen) als endogenen Prozeß ansehen möchte. —

Bei den durch Medikamente künstlich hervorgerufenen dünnen Stuhlentleerungen, wo es sich nur um eine beschleunigte Bewegung der Contenta durch den Darmkanal hindurch ohne anatomische Veränderungen der Darmschleimhaut handelt, verändert sich die Darmflora derart, daß auch im Dickdarm ein der Dünndarmflora ähnliches Bakterienbild sich findet, weil in diesem Falle zum Entstehen einer besonderen Dickdarmflora keine Gelegenheit (Zeit) gegeben ist. Einen derartigen Fall glaube ich in No. 7 (s. o.) sehen zu müssen (beschleunigte Passage der Darmcontenta infolge Cerolinverabreichung), wo der *Enterococcus* im ganzen Darmkanal das vorherrschende Bakterium bildete.

Im Anschluß hieran sei ein anderer Fall angeführt, in dem durch Verabreichung von Calomel in ähnlicher Weise eine Veränderung der normalen Darmflora hervorgerufen wurde:

Pat. No. 4 (Frühgeburt, Lues hereditaria); aufgenommen am 2. Juli, gestorben mit 25 Tagen am 4. Juli, hat 2 Tage lang je 2mal 0,005 g Calomel neben $\frac{1}{8}$ Milch: Milchzuckerwasser (5-proz.) bekommen.

Darmuntersuchung: $1\frac{1}{2}$ Stunden post mortem.

Oberes Jejunum: Enthält alkalischen Schleim mit vielen Bakterien (Reizung der Darmschleimhaut durch das Calomel).

Ausstrich: Zahlreiche Kokken und grampositive Kurzstäbchen; gramnegative Kurzstäbchen (*B. lactis aërogenes* und *B. coli*) und *B. perfringens* in geringerer Zahl.

Unteres Ileum: Alkalische breiige Faeces.

Ausstrich: Gleicher Befund wie im Jejunum.

Coecum: Alkalischer, dünner, schleimiger Inhalt.

Ausstrich: Gemischte „Kuhmilchstuhlflora“ mit Ueberwiegen von Kokken (*Enterococcus*).

Colon transversum (Mitte): Gleicher Befund wie im Coecum.

Rectum: Breiige, alkalische Faecesmassen.

Ausstrich: Gleicher Befund wie im Coecum.

Die (nicht durch medikamentöse Reize hervorgerufenen) Dyspepsieen scheinen sich in bakteriologischer Hinsicht dadurch auszuzeichnen, daß die gramnegativen Stuhlbakterien (*B. coli*, *B. lactis aërogenes*) zusammen oder einzeln in den Vordergrund treten; insbesondere bei leichten Fällen von Dyspepsie findet sich kulturell im Stuhle häufig ein überwiegendes Wachstum von *B. lactis aërogenes* (welches infolge der dyspeptischen Erscheinungen im Dünndarm das Uebergewicht bekommt und bei der Darmperistaltik auch in überwiegender Zahl ausgeschieden wird).

Pat. No. XVI (s. o.) erhält vom 10. Sept. an $\frac{1}{8}$ Milch: Reismehlabkochung mit 5 Proz. Milchzuckerzusatz.

Am 13. und 14. Sept. je 4 dyspeptische Stuhlentleerungen, deren Ausstrichpräparate überwiegend gramnegative Kurzstäbchen zeigen, während die aerobe Kultur hauptsächlich *B. lactis aërogenes* ergibt.

Bei Pat. No. XIII (s. o.) zeigen die kurz nach der Aufnahme entleerten dyspeptischen Stühle im Ausstrich Kokken, kürzere und längere grampositive Stäbchen und viele gramnegative Kurzstäbchen. Bei kultureller Untersuchung (aërob) wächst nur *B. lactis aërogenes* (kein *B. coli*).

Bei Dyspepsieen sehen wir also eine Vereinfachung von Darm- und Stuhlflora in dem Sinne, daß (bei ganz leichten Fällen der *Enterococcus*) gewöhnlich das *Bacterium lactis aërogenes* oder das *B. coli*, oder beide zusammen die vorherrschenden Darm- und Stuhlbakterien werden.

Die Verteilung der Bakterien in den einzelnen Abschnitten des Darmkanals bei Dyspepsieen gestaltet sich folgendermaßen:

Pat. No. 21; gestorben am 22. Aug. mit 1 Monat (Sektionsdiagnose: Bronchopneumonie, Otitis media duplex, geringe Rötung der Darmschleimhaut), hat bei $\frac{1}{4}$ Milch: 5 Proz. Milchzuckerwasser am 19. und 20. Aug. mehrere (4 und 3) dünne schleimige saure Stühle entleert und an diesen beiden Tagen je 3mal 0,5 g Tannalbin mit seiner Milchmischung erhalten (am 21. Aug. werden 2 breiiggelbe, schwach saure Stühle mit *Bacillus bifidus* und gramnegativen Kurzstäbchen entleert).

Darmuntersuchung: 15 Minuten post mortem.

Oberes Jejunum: Gallig gefärbter saurer Schleim.

Ausstrichpräparat: Zeigt viele Bakterien: Kokken, kürzere und längere grampositive Stäbchen, gramnegative Kurzstäbchen.

Dünndarm — Mitte: Gallig gefärbter saurer Schleim.

Ausstrich: Kokken, gramnegative und grampositive Kurzstäbchen.

Kultur: *B. coli*, *B. lactis aërogenes*, *Enterococcus*, *B. exilis*.

Unteres Ileum: Klarer alkalischer Schleim mit fetzigen alkalischen Kotteilchen.

Ausstrich: Aus den Kotpartikelchen überwiegend Kokken und kurze grampositive, vereinzelte gramnegative Stäbchen (*B. coli*); (im Schleim außerdem noch gramnegative Vibrionen).

Coecum: Gleicher Inhalt wie im unteren Ileum.

Ausstrich: Gemischte Kuhmilchstuhlflora, sehr viele Vibrionen, viele dem *Bacillus bifidus* ähnliche Stäbchen, mäßig viele gramnegative Stäbchen (*B. coli*).

Colon transversum (Mitte): Gleicher Inhalt wie im unteren Ileum.

Ausstrich: Kokken, Vibrionen, grampositive und gramnegative Kurzstäbchen.

Kultur: *B. coli*, *Enterococcus*, *B. exilis*?, *B. perfringens*.

Dem Vorkommen von (gramnegativen) Vibrionen (cf. oben) scheint eine pathogene Bedeutung nicht zuzukommen.

Pat. No. 5 (s. o.); gestorben am 8. Juli mit 4 Monaten (Sektionsdiagnose: Bronchopneumonie) hatte vom 6. Juli an dyspeptische Stühle, die neben *Bacillus bifidus* zahlreiche gramnegative Stäbchen (*B. coli*) enthielten.

Darmuntersuchung: 2 Stunden post mortem.

Oberes Jejunum: Enthält wenig gallig gefärbten alkalischen Schleim.

Ausstrich: Gramnegative Stäbchen (*B. coli*).

Unteres Ileum: Schleimige, alkalisch reagierende Faeces.

Ausstrich: Kokken, gramnegative Stäbchen (*B. coli*); wenige grampositive Kurz- und Langstäbchen (*Bacillus perfringens*?).

Kultur: *B. coli*, *Enterococcus*, *B. exilis*?

Coecum: Alkalischer, schleimiger Inhalt.

Ausstrich: Grampositive (*Bacillus bifidus*) und gramnegative (*B. coli*) Stäbchen, gramnegative „fusiforme Bacillen“; weniger zahlreiche Kokken.

Colon ascendens (Mitte): Alkalischer schleimiger Inhalt.

Ausstrich: Gramnegative Stäbchen (*B. coli*), Vibrionen, wenige Kokken und fusiforme Bacillen.

Kultur: *B. coli*, *Enterococcus*, *B. exilis*, *B. bifidus*.

Die „fusiformen Bacillen“ habe ich öfters bei Untersuchungen des Darmes (und des Mundschleims) gefunden, ohne daß ich ihnen eine pathogene Bedeutung zuschreiben möchte (cf. oben); ich habe auch anaërob in Agar (tiefer Schicht) diese Bacillen zu Kolonien (unter fötidem Geruch) auswachsen sehen. Das Wachstum schien mir aber nur darin zu erfolgen, wenn beim Abimpfen Schleimpartikelchen mit in das Agar übertragen wurden.

Pat. No. 8; 17 Tage, aufgenommen wegen Atrophie am 19. Juli, enthält am 1. Tage $\frac{1}{4}$ Milch: 5 Proz. Milchzuckerwasser, wegen Entleerung von dyspeptischen Stühlen vom 20. Juli an Malzsuppe. Exitus am 21. Juli (Sektionsbefund: Atrophie, subakute Enteritis mit Follikelschwellung).

Stuhl (am 20. Juli), Ausstrich: Zahlreiche gramnegative Stäbchen (*B. coli*), viele Kokken und einzelne grampositive Lang- (*Bacillus perfringens*) und kürzere Stäbchen (*Bacillus bifidus*).

Kultur: *B. coli*, *Enterococcus*, *B. perfringens*, *B. exilis*?

Darmuntersuchung: 15 Minuten post mortem.

Oberes Jejunum: Stark gallig gefärbter alkalischer Schleim.

Ausstrich: Sehr viele Kokken; grampositive Stäbchen (*Bacillus perfringens*).

Unteres Ileum: Gallig gefärbter, alkalisch schleimiger Inhalt.

Ausstrich: Viele Kokken, gramnegative Kurzstäbchen (*B. coli*) und grampositive Langstäbchen (*Bacillus perfringens*).

Colon ascendens: Dünne, gelbe, schwach alkalische Faeces.

Ausstrich: Sehr viele Kokken und gramnegative Stäbchen (*B. coli*); zahlreiche, dem *Bacillus perfringens* ähnliche Stäbchen.

Colon transversum: Weißlich-lehmiger, alkalischer Stuhl.

Ausstrich: Typisches Bild der gemischten Kuhmilchstuhlflora.

Pat. No. 11 (s. o.); akquiriert bei dem am 20. Juli begonnenen Versuche, die seit dem 28. Juni verabreichte Malzsuppe langsam durch Milchmischung zu ersetzen, am 25. Juli, bei Verabreichung von 2mal täglich Malzsuppe und 4mal je 60 g Milch: 90 g Reismehlabbokchung mit 5 Proz. Milchzucker eine Dyspepsie. Pat. erhält vom 25. Juli an $\frac{1}{2}$ Levuretabletten täglich, vom 27. Juli nur Malzsuppe und $\frac{1}{2}$ Levuretabletten. Exitus am 28. Juli (Sektionsdiagnose: Atrophie; Rötung der Dünndarmschleimhaut mit Follikelschwellung, starke Schwellung der Dickdarmschleimhaut mit Pigmentierung der vergrößerten Follikel).

Der am 25. Juli entleerte Stuhl zeigte im Ausstrichpräparat Kokken, neben einigen dem *Bacillus perfringens* ähnlichen Stäbchen.

Kultur: *B. coli*, *Enterococcus*, *B. perfringens*, fusiforme Bacillen (s. oben).

Kurz ante mortem entleerter Stuhl enthielt im Ausstrich: Kokken, wenige gramnegative Stäbchen, einzelne dem *Bacillus perfringens* ähnliche Stäbchen.

Darmuntersuchung: 30 Minuten post mortem ergab:

Oberes Jejunum: Dünner, gelber, schwach alkalischer Schleim.

Ausstrichpräparat: Keine Bakterien.

Unteres Ileum: Gelb-grünlicher, schwach alkalischer Schleim.

Ausstrich: Zahlreiche Kokken.

Kultur: *Enterococcus*, *B. coli*, *B. exilis*.

Coecum: (Stark gashaltig), sonst gleicher Inhalt wie im unteren Ileum.

Ausstrich: Kokken, einzelne grampositive Langstäbchen (*Bacillus perfringens*), viele gramnegative Vibrionen.

Kultur: *Enterococcus*, *B. coli*, *B. exilis*, *B. perfringens*?

Colon transversum: Gleicher Inhalt und gleicher bakteriologischer Befund wie im Coecum.

Im letzten Falle fand sich insofern eine Abweichung von dem üblichen Befunde, als der obere Dünndarm im Ausstrich bakterienfrei gefunden wurde, wie man es im normalen Darne gewöhnt ist. Dieser Umstand, sowie der Befund, daß der *Enterococcus* in sämtlichen Darmabschnitten das überwiegende Bakterium war, findet seine Erklärung vielleicht darin, daß Pat. außer Mehlsuppe noch Hefepreparate erhalten hatte und daß die aufgetretene Dyspepsie nicht sehr schwerer Natur war, wenn sie auch bei dem (durch Milchnährschaden, frühere Darmerkrankung) stark atrophischen Kinde zum Exitus geführt hatte.

Im Anschluß hieran sei noch ein zweiter Fall von pathologisch-anatomisch nachweisbarer Enteritis angeführt, dessen Dünndarm ebenfalls eine relativ ausgeprägte Keimarmut zeigte.

Pat. No. 24; 3 Monate alt (Atrophie, Mehlnährschaden, Bronchitis), aufgenommen am 2. Okt. Zu Hause soll Pat. bis kurz vor der Aufnahme an Brechen und Durchfall gelitten haben.

Nahrung: Am 1. Tage je 30 g Milch: 75 g Milchzuckerwasser 5-proz.; am 2. Tage 45 g Milch: 60 g Milchzuckerwasser; an diesen beiden Tagen keine Stuhlentleerung, kein Brechen. Vom 3. Tage an $\frac{1}{2}$ Milch: 5 Proz. Milchzuckerwasser. Nach Klysma erfolgt Entleerung eines gelblichen, lehmig-alkalischen Stuhles, die gemischte Kuhmilchstuhlflora und viele Exemplare von *Bacillus perfringens* enthaltend.

Am 4. Okt. abends Brechen und subnormale Temperatur (34°) — 1 Stuhl mit gleichem Befund wie vorher; ebenso am 5. Okt. (2 Stühle); Kochsalzinfusion. Abends ein weißlich-lehmiger saurer Stuhl mit gleicher Flora wie oben (in Essig-Dextrosebouillon wächst kein *Bacillus acidophilus*). — 6. Okt.: 2malige Kochsalzwasserinfusion; keine Stuhlentleerung. Exitus am 7. Okt. (Sektionsdiagnose: Atrophie, Bronchitis, mäßige Rötung und geringe Follikelschwellung im Dickdarm).

Darmuntersuchung: 2 $\frac{1}{2}$ Stunden post mortem; alle Därme kontrahiert schwach alkalischen (im Dünndarm gallig gefärbten) Schleim enthaltend.

Oberes Jejunum. Ausstrich: Ganz vereinzelte Diplokokken (Enterococcus).

Dünndarm (Mitte). (Wandständiger Schleim): Ausstrich: Nur vereinzelte grampositive Stäbchen (*Bacillus perfringens*).

Kultur: aërob: *B. lactis aërogenes*; anaërob: *B. lactis aërogenes*, *B. perfringens*, *Enterococcus*. (2. Verdünnung der anaëroben Kultur bleibt steril).

Unteres Ileum. Ausstrich: Ueberwiegend Kokken und grampositive Kurzstäbchen (*Bacillus exilis*).

Caecum. Ausstrich: Gleicher Befund wie im unteren Ileum, außerdem einzelne dünne grampositive (dem *Bacillus bifidus* ähnliche) und gramnegative Stäbchen (*B. coli*, *B. lactis aërogenes*).

Colon transversum. Ausstrich: Ueberwiegend Kokken.

Kultur: *B. coli*, *B. lactis aërogenes*, *Enterococcus*, *B. perfringens*, *B. exilis*.

Rectum: Ausstrich: Ueberwiegend Kokken und gramnegative Spirillen.

Diese beiden zuletzt besprochenen Fälle bilden einen Beweis dafür, daß das Gesetz vom Verlust der Keimarmut des Dünndarms bei frischen Enteritiden nicht für alle Fälle Geltung zu haben braucht. Diese 2 Befunde, bei denen sich die (leichte) Dyspepsie im bakteriologischen Bilde dadurch zu erkennen gab, daß (neben vermehrtem Wachstum der gramnegativen Stäbchen) der *Enterococcus* in beiden Fällen das prädominierende Bakterium des ganzen Darmkanals wurde (s. o.), (die im letzten Falle gefundenen Spirillen möchte ich ebenso wie die schon früher erwähnten Vibrionen und die fusiformen Bacillen als zufällige Nebenfunde ohne ätiologische Bedeutung ansehen), könnten als Uebergang vom normalen zu dem fast allgemein bei Dyspepsieen erhobenen Befunde (Prädominieren der gramnegativen Stäbchen) gedeutet werden.

Dieser Uebergang von der normalen zur pathologischen Darmflora scheint in der folgenden Weise zu erfolgen:

Bei leichten oder beginnenden dyspeptischen Erscheinungen, die nur mit einer beschleunigten Fortbewegung des Darminhaltes (ohne stärkere Entzündung der Darmwandung) einhergehen, und bei Verabfolgung von schwach abführenden Medikationen (Cerin, frische Hefe — ohne Tannalbin — Darmspülungen — Tissier) fehlt die Zeit zur Entwicklung einer besonderen Dickdarmflora (s. o.), es tritt dann auch im Dickdarm und im Stuhle als vorwiegendes Bakterium der *Enterococcus* auf (ohne immer einige nebenher wuchernde Darmparasiten — Vibrionen, fusiforme Bacillen u. a. — zu verdrängen). Der im wandständigen Schleim sich findende *Bacillus perfringens* erleidet dadurch keine Einschränkung einer Wachstumsfähigkeit.

Stärkere Dyspepsieen zeichnen sich dadurch aus, daß schon im Dünndarm die gramnegativen Stäbchen (*B. lactis aërogenes* oder *B. coli*) die Oberhand gewinnen und aus dem schon erwähnten Grunde auch im Dickdarm und im Stuhle die prädominierenden Mikroorganismen bleiben (Modification diarrhéique aérobie — Rivet, l. c.). In gleichem Sinne sind auch die durch stärkere Abführmittel, z. B. Calomel, erfolgenden Veränderungen der Darm- und Stuhlflora (Tissier) zu deuten.

Irgend welche ätiologische Bedeutung den Dyspepsieen gegenüber ist damit ebensowenig dem *Enterococcus* als dem *B. lactis aërogenes* und dem *B. coli* zuzusprechen; im Gegenteil, der erste ätiologische Faktor der Dyspepsieen scheint eher eine von außen kommende alimentäre (medikamentöse) Schädigung zu sein, die aber allein nicht genügen würde, um das ganze Symptomenbild der Dyspepsie hervorzurufen. Es erscheint die Annahme berechtigt, daß nach Entstehung der Dyspepsie die am unrichtigen Orte und in abnorm großer Menge

wachsenden (oben genannten) Mikroorganismen eine sekundäre Schädigung zu verursachen und so den Symptomenkomplex der Dyspepsie zu vervollständigen vermögen (*Circulus vitiosus*).

Der *Enterococcus* [allein, wie in Symbiose mit dem *B. coli*¹⁾] als auch das *Bacterium coli*²⁾ sind vielfach als Erreger der schwereren und leichteren Säuglingsenteritiden angeschuldigt worden; speziell beim *B. coli* wurde hierfür die mehr oder minder hohe Agglutination des betreffenden Bacillus durch das Blut des erkrankten Säuglings ins Feld geführt, ein Standpunkt, der aber gegenwärtig kaum mehr Anhänger hat, und dem durch die Arbeiten von Klieneberger³⁾ und von Burk⁴⁾ der Boden völlig entzogen ist. — Zum Beweise der Pathogenität des *Enterococcus* ist auch (Nobécourt l. c.) seine Tierpathogenität angeführt worden. Auch dieses Argument ist nicht zwingend, denn nach den Versuchen von Heinemann⁵⁾ besitzt der *Streptococcus lacticus* (aus Milch gezüchtet), den wir im vorhergehenden als mit dem *Enterococcus* identisch angesprochen haben, bei intravenöser Injektion immer, bei subkutaner nach wiederholten Tierpassagen eine ausgesprochene Tierpathogenität. —

Darmflora beim Enterokatarrh. Bei schwereren Darmstörungen, beim Enterokatarrh, zeigt die Darmflora meist ein von dem eben beschriebenen ziemlich verschiedenes Bild. — Die leichteren Fälle des Enterokatarrhs lehnen sich an das bei Dyspepsieen gefundene Bakterienbild an, so daß der Uebergang zwischen diesen beiden Darmaffektionen ebenfalls ein fließender ist. — Bei den schwersten Formen (*Cholera infantum*) treten hauptsächlich der *Bacillus perfringens* zusammen mit dem *B. coli* so in den Vordergrund, daß sich der Gedanke an ein symbiotisches Verhältnis beider Mikroorganismen aufdrängt. Inwieweit diese Annahme ihre Berechtigung hat, ist schwer zu entscheiden. Bevor auf diese Frage näher eingegangen wird, möge der bakteriologische Untersuchungsbefund des Darminhaltes von einigen an Enterokatarrh zum Exitus letalis gekommenen Säuglingen hier gegeben sein (beginnend mit den leichteren Fällen, deren Darmflora sich zum Teil an die der Dyspepsieen anschließt s. o.).

Pat. No. 18; 2 Monate alt (subakuter Enterokatarrh), aufgenommen und gestorben am 17. Aug. (Sektionsdiagnose: Atrophie, Bronchopneumonie, Enteritis des Dün- und Dickdarms mit Follikelschwellung).

Ernährung während der 3 letzten Tage ante mortem mit reiner Theinhardt-Wasserabkochung.

Darmuntersuchung: 1 Stunde post mortem.

Oberes Jejunum: Düninflüssiger, schwach saurer Inhalt mit gelblichen Schleimflockchen.

Ausstrich: Grampositive (*B. exilis*) und gramnegative (*B. coli*) Kurzstäbchen; grampositive Langstäbchen (*B. perfringens*) und Kokken.

Dünndarm — Mitte: Gleicher Befund wie vorher.

Unteres Ileum: Neutraler, dünner Schleim.

Ausstrich: Gleicher Befund wie im Jejunum.

Coecum: Dünne gelbliche, schleimige Faeces, schwach alkalisch.

Ausstrich: Gemischte „Kuhmilchstuhlflora“.

Colon transversum (Mitte): Gleicher Befund wie im Coecum.

1) Nobécourt, Recherches sur la pathogénie des infections gastro-intestinales, Paris 1899, und Les streptococcies intestinales. La Presse médicale. (1903. No. 77 u. 79.)

2) Apfelstedt, Zur Bekämpfung der Säuglingssterblichkeit, speziell des Brechdurchfalls. (Therapeut. Monatshefte. 1906. No. 10.)

3) Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. XC. 1907. p. 267.

4) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. p. 577.

5) Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Referate. Bd. XL. 1907. p. 289.

Rectum: Dünne, schwach saure Faeces.

Ausstrich: Gleicher Befund wie im Coecum.

Pat. No. 13; 7 Monate, aufgenommen wegen Atrophie und Dyspepsie am 5. Aug., erhält $\frac{1}{2}$ Milch: Reismehlabbkochung mit 5 Proz. Rohrzuckerzusatz und 2mal täglich 0,05 g Acidum tannicum; am 5. Aug. abends Entleerung eines dünnen gelben alkalischen Stuhles, überwiegend gramnegative Stäbchen (*B. coli*) enthaltend.

Am 6. Aug. stärkere enteritische Erscheinungen; es werden 4 dünne, schwach alkalische Stühle entleert (Temperatur morgens 38,7°, abends 37,9°). 4mal 0,05 g Acid. tannic. Exitus am 7. Aug. früh (Sektionsdiagnose: Atrophie, Pleuritis sicca diaphragmatica dextra, Schwellung und Trübung der Darmschleimhaut).

Darmuntersuchung: 6 Stunden post mortem.

Oberes Jejunum: Saurer gelblicher, schleimiger Inhalt.

Ausstrich: Grampositive Kurz- und Langstäbchen (*Bacillus perfringens*), gramnegative Stäbchen (*B. coli*).

Unteres Ileum: Alkalischer dünner, gelbgefärbter Inhalt.

Ausstrich: Kokken, grampositive Kurz- und Langstäbchen (*Bacillus perfringens*).

Coecum: Gleicher Inhalt wie vorher.

Ausstrich: Gemischte „Kuhmilchstuhlflora“ mit vielen grampositiven Langstäbchen (*Bacillus perfringens*).

Colon transversum: Wenig schwach alkalischen, hellen Schleim.

Ausstrich: Gemischte Kuhmilchstuhlflora.

Pat. No. 14 (s. o.); kommt am 11. Aug. an akutem, nach Dyspepsie entstandenem Enterokatarrrh zum Exitus letalis (Sektionsdiagnose: Akute Gastritis; normale Darmschleimhaut).

Der am 10. Aug. abends entleerte Stuhl hatte in der Kultur vorwiegend *B. coli*, *B. perfringens*, *Enterococcus*, *B. bifidus* und *B. exilis* enthalten; das Ausstrichpräparat hatte außer den genannten Bakterien noch zahlreiche gramnegative Spirillen (s. o.) gezeigt.

Darmuntersuchung: 5 Stunden post mortem.

Oberes Jejunum: Gelber, alkalischer Schleim.

Ausstrich (viele Bakterien): Gramnegative Coccobacillen (*B. lactis aërogenes* und Stäbchen (*B. coli*), Kokken, vereinzelte grampositive Langstäbchen (*B. perfringens*).

Dünndarm—Mitte: Gleicher Inhalt wie vorher.

Ausstrich: Ueberwiegend gramnegative Kurzstäbchen; Kokken.

Kultur: *B. lactis aërogenes*, *B. Lesage* (s. o.), *B. exilis*?, *B. coli* und *B. perfringens* einzeln und in Mischkulturen.

Unteres Ileum: Gelblicher, breig-schleimiger, alkalischer Inhalt.

Ausstrich: Kokken, grampositive und gramnegative Kurzstäbchen.

Coecum: Dünne alkalische Faeces.

Ausstrich: Gemischte Kuhmilchstuhlflora.

Colon transversum (Mitte): Gleicher Befund wie im Coecum.

Das Vorherrschen der gramnegativen Stäbchen in diesem Falle deutet auf einen engen Zusammenhang dieses Krankheitsbildes mit den oben beschriebenen Dyspepsieen mit Ueberwiegen von *B. coli* und *B. lactis aërogenes* hin.

Pat. No. 22 (s. o.); gestorben am 2. Sept. mit $5\frac{1}{2}$ Monaten unter den Symptomen eines subakuten Enterokatarrrhs (Sektionsdiagnose: Atrophie, Furunkulose, akute Schwellung der Magen- und Darmschleimhaut).

Darmuntersuchung: $1\frac{1}{4}$ Stunde post mortem; alle Därme gebläht, mit stark saurem Inhalt.

Oberes Jejunum: Weißlich gelblicher, schleimiger Chymus.

Ausstrich: Vorwiegend Kokken.

Kultur: *Enterococcus*, *B. coli*, (*B. lactis aërogenes*?), *B. acidophilus*, *B. perfringens*?

Dünndarm—Mitte: Gelber, schleimiger Inhalt.

Ausstrich (mäßig stark bakterienhaltig): Kokken, einzelne grampositive und gramnegative Stäbchen, Vibrionen.

Unteres Ileum: Weißlicher Schleim mit fetzigen, gelben Chymusteilchen.

Ausstrich (ziemlich wenig Bakterien): Kokken, Vibrionen, einzelne grampositive Stäbchen.

Kultur: Enterococcus, B. coli, B. perfringens, B. acidophilus, B. exilis?

Coecum: Gelbe dünne Faeces.

Ausstrich: Grampositive Kurz- und Langstäbchen (Bacillus perfringens).

Colon transversum (Mitte): Weißlich-gelblicher Schleim.

Ausstrich: Grampositive Lang- und Kurzstäbchen; einzelne Vibrionen.

Kultur: Enterococcus, B. coli, B. perfringens, B. acidophilus, B. exilis.

Rectum: Schwach saurer, gelblicher Schleim.

Ausstrich: Grampositive Langstäbchen (Bacillus perfringens), gramnegative (B. coli) und grampositive Kurzstäbchen, vereinzelte gramnegative Spirillen.

Pat. No. 20 (s. o.); erkrankt am 14. Aug. an Enterokataarrh. Der Stuhl, welcher bis zum 13. Aug. neben gemischter Kuhmilchstuhlflora zahlreiche Bifidus-Bacillen enthalten hatte, wird grün-schleimig (sauer), der Bacillus bifidus verschwindet, während dafür B. perfringens, B. coli und gramnegative Vibrionen in den Vordergrund treten. — Exitus am 18. Aug. Pat. hat in den 4 letzten Tagen nur Reismehl-Wasserabkochung mit 3 Proz. Milchzuckerzusatz und täglich $\frac{3}{4}$ Levuretabletten erhalten (Sektionsbefund: Beiderseitige Bronchopneumonie nach Masern; Enteritis des Dünn- und Dickdarms mit Schwellung der Follikel).

In dem am 16. Aug. entleerten schleimigen Stuhl finden sich kulturell: Enterococcus, B. coli und B. perfringens, beide zum Teil in Mischkultur, fusiforme Bacillen, B. acidophilus?, B. exilis?

Darmuntersuchung: 2 Stunden post mortem.

Oberes Jejunum: Gelb-schleimiger, saurer Inhalt.

Ausstrich: Kokken, gramnegative (B. coli, B. lactis aërogenes) und grampositive Kurzstäbchen, einzelne grampositive Langstäbchen (B. perfringens).

Dünndarm—Mitte: Gleicher Befund wie vorher.

Kultur: B. coli, Enterococcus, B. perfringens, B. acidophilus, B. exilis?

Unteres Ileum: Dünner, stark saurer Schleim.

Ausstrich: Grampositive Lang- (Bacillus perfringens) und Kurzstäbchen; Kokken, wenige gramnegative Vibrionen.

Coecum: Gleicher Befund wie im unteren Ileum.

Colon transversum (Mitte): Gleicher Befund wie im unteren Ileum.

Die bakteriellen Befunde in den vorhergehenden Fällen von weniger schweren Enterokataarrhen kommen dem, was wir oben beim normalen oder leichter dyspeptisch erkrankten Darmkanal gefunden haben, ziemlich nahe. Wie bei einer endogenen Infektion natürlich, sind die Grenzen zwischen normalem und pathologischem Zustande, besonders in den kulturellen Befunden, auch viel weniger scharf als bei exogenen Infektionen. Der hauptsächlich in den obigen Fällen hervortretende Unterschied besteht darin, daß schon in den Ausstrichpräparaten aus dem Dünndarminhalte (nicht nur im wandständigen Schleim) ein unverkennbar stärkeres Wachstum der grampositiven Langstäbchen sich geltend macht, die sich in der Kultur als Bacillus perfringens (unbeweglicher dimorpher Buttersäurebacillus) erweisen. Daneben treten die gramnegativen Bacillen (B. coli, B. lactis aërogenes) stärker als normal auf, aber doch nicht in dem Grade (wie wir es bei den Dyspepsieen gesehen haben), daß sie die vorherrschende Flora des gesamten Darmkanales bilden. Die Hauptmasse der Dickdarm- und Stuhlflora ist von grampositiven Mikroorganismen gebildet (modification diarrhéique anaérobie — Rivet).

Tissier¹⁾ hat im Bacillus perfringens den alleinigen ätiologischen Faktor einer kontagiösen, hauptsächlich im Sommer auf-

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1905. p. 273.

tretenden Enteritis des Säuglings (besonders der Brustkinder) sehen zu müssen geglaubt. Dem widerspricht schon die Tatsache, daß der *Bacillus perfringens* normalerweise in allen Säuglingsstühlen (Passini) und im wandständigen Darmschleim des natürlich oder künstlich ernährten normalen Säuglings sich findet (s. o.) und im Lävulosestuhl z. B. in großer Zahl vertreten ist (s. o.), ohne eine pathologische Bedeutung zu erlangen. Dagegen ist nach den oben erwähnten Befunden die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß der *Bacillus perfringens* bei eintretenden Dyspepsien oder Enterokatarrhen sekundär auch im Darminhalte zu stärkerer Vermehrung (und abnormen chemischen Leistungen) gelangt und so eine schädigende Wirkung auszuüben vermag.

Pat. No. XV; 7 Wochen, Brustkind (Bronchitis — Pertussis? — Dyspepsie), entleert am 13. Sept. einen gelb-schleimigen, stark sauren Stuhl, der im Ausstrich neben Kokken (Enterokokken) überwiegend dem *Bacillus bifidus* ähnliche und wenig größere grampositive Stäbchen enthält.

Kultur in Dextrose-Essigbouillon ergibt kein Wachstum von *Bacillus acidophilus*.

Aërobe Agarkultur: *B. coli*; anaërobe Zuckeragarkultur; *Enterococcus* und *B. perfringens*. (Kein Wachstum von *B. bifidus*.)

Wir müssen also auch beim Brustkinde eine dyspeptische Störung, die mit einer Vermehrung des *Bacillus perfringens* einhergeht, von der gewöhnlichen Dyspepsie mit Ueberwiegen der gramnegativen Bacillen (speziell *B. coli* — Tissier) unterscheiden.

Bei den ganz akut verlaufenden Fällen von Enterokatarrh (*Cholera infantum*) treten im ganzen Darmtraktus der *Bacillus perfringens* und das *B. coli* (zusammen) in den Vordergrund.

Pat. No. 25 (s. o.); (Sektionsbefund: Rötung und geringe Schwellung der Dünndarmschleimhaut, starke Schwellung der Dickdarmschleimhaut; Trübung der Nierenrinde).

Darmuntersuchung, 1 Stunde post mortem: Dünndarm gebläht, Dickdarm kontrahiert.

Oberes Jejunum: Gelber saurer, dünn-schleimiger Inhalt.

Ausstrich: Zahlreiche gramnegative Kurzstäbchen, wenige grampositive Kurz- und Langstäbchen (*B. perfringens*).

Dünndarm — Mitte: Gelblicher alkalischer Schleim.

Ausstrich: Wie oben.

Kultur: *B. lactis aërogenes*, *B. coli*, *B. perfringens*, *B. acidophilus*.

Unteres Ileum: Gleicher Befund wie im übrigen Dünndarm.

Coecum: Dünnflüssiger, gelblicher, saurer Inhalt.

Ausstrich: Zahlreiche grampositive (vorwiegend *B. bifidus*), viele gramnegative Stäbchen, wenige Kokken.

Colon transversum: Gleicher Befund wie im Coecum;

im Ausstrich außerdem noch einige gramnegative Spirillen.

Kultur: *B. coli*, *B. lactis aërogenes*, *B. bifidus*, *B. perfringens*.

In diesem Falle ist trotz der schweren Symptome von seiten des Darmes der zur normalen Dickdarmflora gehörende *Bacillus bifidus* (vielleicht infolge der Hefetherapie — s. o.) nicht ganz verdrängt worden, wie wir ja auch den normalen Vertreter der Dünndarmflora, den *Enterococcus*, in fast allen pathologischen Fällen ebenfalls gefunden haben.

Pat. No. 9; 9 Monate, aufgenommen wegen akuten Brechdurchfalls (alimentäre Intoxikation) am 20. Juli mit einer Temperatur von 40,5°, erhält am ersten Tage reines Wasser, ohne Zusatz; Darmspülung; Bad von 30°.

Entleerung eines grünen, aus Schleim bestehenden, schwach sauren Stuhles, der im Ausstrich vorwiegend grampositive Langstäbchen (*B. perfringens*), Kokken und gramnegative Bacillen (*B. coli*) zeigt. — Kultur: *B. coli*, *B. perfringens*, *Enterococcus* (in der 1. Verdünnung — Agar — fusiforme Bacillen). — 2 Stuhlentleerungen im ganzen.

Am 2. Tage morgens 35,5°, abends 38,0°. — Eine Stuhlentleerung im Laufe des

Tages mit gleichem Befund wie am Tage vorher. — Darmspülung; Verabreichung von Wasser mit $\frac{3}{2}$ Levuretabletten, abends einmal mit 3 Proz. Milchzuckerzusatz.

Exitus am 3. Tage (22. Juli) morgens (Sektionsdiagnose: Schwellung der Darmschleimhaut und der Follikel; keine Injektion der Darmgefäße).

Darmuntersuchung, $2\frac{1}{2}$ Stunden post mortem: Der ganze Dünndarm und das Colon transversum sind stark kontrahiert, mit zahlreichen (agonalen) Invaginationen.

Oberes Jejunum: Gallig gefärbter saurer Schleim.

Ausstrich: Zahlreiche Kokken und grampositive Kurz- und Langstäbchen (*B. perfringens*), gramnegative Stäbchen (*B. coli*).

Unteres Ileum: Schwach alkalischer, zäher grüner Schleim.

Ausstrich: Kokken, grampositive Stäbchen (*B. perfringens*), Hefezellen (*Levuretin*).

Kultur: *B. coli*, *Enterococcus*, *B. perfringens*.

Coeccum: Grüner, saurer Schleim.

Ausstrich: Kokken, grampositive verschiedene Stäbchen (*B. bifidus*?, *B. perfringens*), gramnegative Stäbchen (*B. coli*) und Hefezellen (s. o.).

Colon transversum: Gleicher Befund wie im Coecum.

Diese 2 letzterwähnten Fälle scheinen mir besonders geeignet, um das stärkere Hervortreten des *B. perfringens* und *B. coli* in sämtlichen Darmabschnitten zu zeigen. Allerdings ist ja, wie die Kultur zeigt, der *Bacillus perfringens* in fast jedem Darmabschnitt und in jedem Stuhl des Säuglings (Passini) vertreten, er ist aber im Ausstrichpräparat des normalen und leicht dyspeptischen Darminhaltes meist nur in ganz vereinzelt Exemplaren oder gar nicht aufzufinden und in seinem Vorkommen (meist ebenfalls in geringer Zahl) auf den wandständigen Schleim beschränkt. Daß der *B. perfringens* in Kulturen wächst, die speziell den Nachweis dieses *Bacillus* bezwecken, ist noch kein Beweis für die Häufigkeit seines Vorkommens, ebensowenig wie man aus dem überwiegenden Wachstum des *B. coli* in aeroben Kulturen aus Darm und besonders Stuhl einen Rückschluß auf dessen Häufigkeit in dem betreffenden Untersuchungsmaterial machen kann. Die Kulturen aus dem Säuglingsstuhl und -Darm, insbesondere die anaeroben Kulturen in hoher Schicht, in denen sich aus verschiedenen Gründen eine Zählung der gewachsenen verschiedenen Kolonien sehr schwer ausführen läßt (Zersprengung des Nährbodens durch Gasbildung; weniger charakteristisches Aussehen als bei Oberflächenkolonien), dürfen einzig den Zweck verfolgen, ein im Ausstrich gefundenes Bacterium (mit größerer Wahrscheinlichkeit) zu identifizieren. Es läßt sich also nur dann über die Häufigkeit oder das Ueberwiegen eines Bacteriums im Ausstrichpräparate eine (Wahrscheinlichkeits-)Diagnose stellen, wenn das nach dem mikroskopischen Aussehen vermutlich vorhandene Bacterium auch in der Kultur sich als entsprechend zahlreich vorhanden erweist. Daß aber auch dann noch Irrtümer leicht möglich sind, hat die Verwechslung des im Stuhle des Brustkindes überwiegenden *Bacillus bifidus* (vor seiner Kultivierung durch Tissier) mit dem *Bacillus acidophilus* gezeigt.

Es sei noch einmal hervorgehoben, daß es nicht die Absicht der vorliegenden Arbeit war, alle eventuell im pathologisch veränderten Darmkanal sich findenden Mikroorganismen aufzuzählen. Es finden sich bei kultureller Untersuchung mittels geeigneter Nährböden schon im normalen Darm in allen Fällen zahlreiche Bakterien, die wegen ihrer geringen Zahl meist im Ausstrichpräparat nicht auffallen [z. B. der *B. putrificus* Bienstock; cf. Passini¹⁾]. In noch höherem Maße gilt dies von den pathologischen Zuständen des Darmkanals; hier finden sich

„bei leichten Durchfällen, wo das Ausstrichpräparat nur eine kaum bemerkenswerte Aenderung der Flora zeigt (wie bei längeren Diarrhöen oder bei schwereren Fällen, wo die Veränderung der Flora stark ausgeprägt ist), fast immer neue Bakterienarten, die man nicht im Stuhle des gesunden Kindes trifft“ [Tissier¹⁾]. Diese neuen, aus dem Ausstrich meist nicht diagnostizierbaren Bakterien möchte ich, solange nicht das eine oder das andere als Infektionserreger exogener Natur nachgewiesen werden kann, nur als zufällige, unter den pathologischen Verhältnissen gedeihende Schmarotzer angesehen wissen (cf. oben den Befund von Vibrionen, fusiformen Bacillen u. a.).

Es ist schon oben darauf hingewiesen worden, daß sich, gerade bei Kulturen von den Fällen von akutem Enterokatarrh (mit Zeichen von Intoxikation) der *B. perfringens* öfters in Mischkulturen mit dem *B. coli* fand, so daß sich (besonders wo auch die Ausstriche aus dem Inhalt der einzelnen Darmabschnitte beide Mikroorganismen zusammen in verhältnismäßig großer Zahl zeigten) der Eindruck einer Symbiose unwillkürlich aufdrängte.

Grasberger und Schattenfroh²⁾ haben gezeigt, daß der unbewegliche dimorphe Buttersäurebacillus neben einer großen morphologischen Variabilität³⁾ eine nicht unwichtige Verschiedenheit seiner chemischen Leistungen aufweist. Es sei hier kurz auf die von Grasberger und Schattenfroh (l. c.) aufgestellte Tabelle hingewiesen, aus der uns die „Ueberführbarkeit (Uebergang)“ des dimorphen unbeweglichen Buttersäurebacillus in eine Fäulnisform (III. — Peptonisierung, Eiweißzersetzung und Kohlehydratgärung bewirkend), die zum *B. putrificus* (Bienstock) in Verwandtschaftsbeziehung gesetzt wird, am meisten interessiert. Wenn der *B. perfringens* eine Fäulnisform bildet, wenn er in Symbiose mit dem *B. coli* im Darne vorkommt, so könnten hiermit einige der beim Enterokatarrh vorkommenden Symptome (Fieber, Intoxikation) wohl ihre Erklärung finden.

Die zur Erklärung der Symptome bei der Sommerdiarrhöe des Kindesalters verantwortlich gemachten ätiologischen Momente sind sehr verschiedener Natur, ohne daß aber bisher die Aetiologie des Enterokatarrhs eine einheitliche Erklärung gefunden hätte: Hitzeeinwirkung (Meinert), Verabreichung einer durch die Sommerhitze veränderten Nahrung, exogene Infektion⁴⁾. Illoyay⁵⁾ hat die Entstehung der Sommerdiarrhöen etwa folgendermaßen geschildert: Durch die Hitzeeinwirkung entsteht Temperatursteigerung (Ueberhitzung), infolge davon Verringerung der Salzsäureresekretion des Magens; die Nahrung passiert ohne genügende Vorverdauung den Magen, verursacht eine Darmreizung mit verstärkter Peristaltik und beschleunigter Passage der unverdauten Nahrung durch den Darmtraktus. — Der salzsäurefreie Magen läßt von außen kommende Bakterien leicht in den Darm übertreten, wo sie, ebenso wie die normalen Darmbakterien, in der nicht genügend verdauten Nahrung günstige Wachstumsbedingungen vorfinden.

Diese Erklärung scheint mir nicht zu genügen, um das foudroyante

1) La flore intestinale des nourissons. Paris 1900.

2) Arch. f. Hyg. Bd. LX. p. 40.

3) Vielleicht gehören die kurzen grampositiven Stäbchen, die sich des öfteren (s. o.) in den Ausstrichpräparaten aus Darminhalt fanden, dessen Kultur außer gramnegativen Bacillen und Enterokokken nur den *B. perfringens* ergab, teilweise ebenfalls in den Formenkreis des dimorphen unbeweglichen Buttersäurebacillus.

4) cf. Morgan, Brit. med. Journ. June 6. 1907.

5) Aetiologie, Pathologie und Therapie der Sommerdiarrhöen der Kinder. Berlin 1905.

Auftreten mancher Fälle von Enterokatarrrh zu erklären. Gleich wie Finkelstein¹⁾ möchte ich viel eher eine alimentäre Schädigung (alimentäre Toxikose — Keller) als erstes treibendes Moment des Enterokatarrrhs ansprechen. Daß akute alimentäre Schädigungen des Verdauungstraktus besonders der Säuglinge im Sommer leichter auftreten als sonst, läßt sich kaum bezweifeln; vielleicht wirkt die Stärke der primären Schädigung u. a. bestimmend auf das Krankheitsbild (Dyspepsie oder Enterokatarrrh). — Jedoch kann ich der Annahme Finkelsteins nicht beistimmen, daß jede bakterielle Einwirkung beim Symptomenbild des unter Intoxikationssymptomen verlaufenden Enterokatarrrhs auszuschließen ist; ein scharfer Unterschied zwischen endogenen bakteriellen Enteritiden und alimentärer Intoxikation scheint mir nicht zu bestehen.

In dem durch (alimentäre) Schädigungen veränderten Darmkanal können die in der Minderzahl vorhandenen Mikroorganismen (cf. die Calomelwirkung) zur Ueberwucherung gelangen (möglicherweise bietet das von der entzündeten Darmschleimhaut abgesonderte Exsudat dem *B. perfringens* die Möglichkeit, sich abnorm stark zu vermehren, während normalerweise der wandständige Schleim für den *B. perfringens* keinen günstigen Nährboden und keine Gelegenheit zum Uebergang in die Fäulnisform bietet, ohne ihn deshalb zu schädigen). — Daß das *B. coli* aus den Eiweißspaltungsprodukten auch Fäulnisstoffe produzieren kann, ist bekannt. Diese Produktion ist bei Symbiose mit Milchsäurebacillen [*B. lactis aërogenes* und *B. bulgaricus* — Belonowski²⁾] geringer. Nach den obigen Befunden scheint gerade beim akuten Enterokatarrrh das starke Auftreten von *B. coli* (in Verbindung mit *B. perfringens*) auf Kosten der Milchsäurebildner des Säuglingsdarmes (*Enterococcus*, *B. lactis aërogenes*) zu erfolgen. — Die Symbiose von *B. perfringens* mit dem *B. coli* gestattet dem ersten Bacillus auch ein Wachstum unter Bedingungen (z. B. aërob), unter denen er sonst sich nicht zu vermehren vermöchte. Doch soll hier auf diese (wenn auch durch den mikroskopischen Befund im Ausstrichpräparate sich aufdrängende) Hypothese, die in dem Vorkommen von *B. perfringens* zusammen mit dem *B. coli* beim Enterokatarrrh ein zu diesem Krankheitsbild gehöriges wichtiges Symptom sehen will, nicht näher eingegangen werden. — Von einer Nachprüfung der Pathogenität des *B. perfringens* (allein oder in Mischkulturen mit dem *B. coli*) bei stomachaler Einverleibung im Tierversuche glaubte ich absehen zu dürfen. Einmal ist es, wie die Versuche verschiedener früheren Autoren beweisen, bei Tieren oft möglich, durch stomachale Verabreichung von Kulturen indifferenter Stuhlakterien des Menschen Enteritiden zu erzeugen, während umgekehrt menschenpathogene Mikroorganismen beim Tiere sich als unschädlich erweisen können. Andererseits scheinen die obigen Untersuchungen dafür zu sprechen, daß wir es beim Enterokatarrrh mit einen, nach primärer Schädigung des Magendarmtraktus (deren Mechanismus uns nicht bekannt, im Tierversuche also auch nicht sicher nachzuahmen ist) entstandenen sekundären Prozeß zu tun haben, verbunden mit abnormer Wucherung endogener Darmbakterien des Menschen, während wir über die endogene Darmflora der Tiere, die jedenfalls von der des Menschen sehr verschieden ist [cf.

1) Ueber alimentäre Intoxikation. I, II u. III. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LXV u. LXVI. 1907.)

2) Biochemische Zeitschrift. Bd. VI. 1907. p. 251.

Horowitz¹⁾], noch wenig orientiert sind. Dagegen wäre es interessant, im Tierversuch zu prüfen, ob es gelingt, mit dem Chamberland-Filtrat von Mischkulturen von *B. perfringens* und *B. coli* auf Nährböden von möglichst ähnlicher Zusammensetzung, wie der Inhalt des Säuglingsdarmes im pathologischen Zustande, bei stomachaler oder subkutaner Einverleibung, der beim Enterokatarrrh auftretenden Intoxikation ähnliche Symptome hervorzurufen. —

Enteritis follicularis. Das Bakterienbild der Enteritis follicularis zeigt wieder ein Hervortreten der gramnegativen Bacillen (besonders *B. coli*), welche die Darm- und Stuhlflora beherrschen — Colicollitis Escherichs. (Es sei hier nur kurz erwähnt, daß ich in einem Falle von follikulärer Enteritis — Pat. No. XXIII; 10 Monate alt — dessen Stühle im Ausstrich sehr zahlreiche Leukocyten und überwiegend gramnegative Kurzstäbchen enthielten, bei der aëroben Kultivierung auf Agar — und in Bouillon — ausschließlich *B. lactis aërogenes* — neben Enterokokken — erhielt.)

Pat. No. 17 (s. o.); gestorben am 17. Aug., hat bei $\frac{1}{2}$ Milch: Reismehlabbkochung mit 5 Proz. Milchezucker, nach der Aufnahme während kurzer Zeit die Symptome einer leichten follikulären Enteritis (blutige Stühle, fétide Entleerungen), die sich trotz Verabreichung von Levuretin und Tannalbin nicht besserten (Sektionsdiagnose: Atrophie, beiderseitige Bronchopneumonie mit linksseitiger hämorrhagischer Pleuritis, Enteritis des Dünn- und Dickdarmes mit Follikelschwellung).

In den 3 letzten Tagen ante mortem hatte Pat. wegen neu auftretender enteritischer Erscheinungen Malzsuppe bekommen; der am 16. Aug. entleerte gelbe, schleimig-dünne alkalische Stuhl hatte neben dem Bild der gemischten Kuhmilchstuhlflora viele Exemplare von *B. coli* und wenige dem *B. bifidus* ähnliche Stäbchen gezeigt. — Kultur: *B. coli*, *B. exilis*, *B. bifidus*.

Darmuntersuchung $1\frac{1}{2}$ Stunden post mortem.

Oberes Jejunum: Gelber saurer Schleim.

Ausstrich: Zahlreiche gramnegative Kurzstäbchen (*B. lactis aërogenes*, *B. coli*), Kokken; vereinzelte grampositive Langstäbchen (*B. perfringens*).

Dünndarm — Mitte:

Ausstrich: Ueberwiegend Kokken, einzelne gramnegative und grampositive Kurzstäbchen.

Kultur: Enterococcus. *B. coli* (*B. lactis aërogenes*?), *B. exilis*, *B. perfringens*.

Unteres Ileum: Dünner gelblicher, schleimiger, schwach saurer Inhalt.

Ausstrich: Gramnegative Kurzstäbchen (*B. coli*), dem *B. bifidus* ähnliche Stäbchen, einzelne grampositive Langstäbchen (*B. perfringens*).

Coecum: Dünne gelbe, alkalische Faeces.

Ausstrich: Gemischte Kuhmilchstuhlflora mit vielen, dem *B. bifidus* ähnlichen Stäbchen.

Colon transversum: Gleicher Inhalt wie vorher.

Ausstrich: Zahlreiche gramnegative Kurzstäbchen, mäßig viele, dem *B. bifidus* ähnliche Bacillen, vereinzelte Hefezellen.

Kultur: *B. coli* (*B. lactis aërogenes*?), Enterococcus, *B. exilis*, *B. bifidus*, *B. perfringens*?, weiße Hefe.

Rectum: Schwach saurer, gelblicher Schleim.

Ausstrich: viele Leukocyten, Kokken, gramnegative und grampositive Stäbchen (viele dem *B. bifidus* ähnliche).

Pat. No. 15; 2 Monate alt, mit Atrophie, Dyspepsie am 25. Juli aufgenommen, zeigt vom 8. Aug. an bei $\frac{1}{2}$ Milch: Reismehlabbkochung mit 5 Proz. Milchezuckerzusatz die Symptome einer follikulären Enteritis.

Am 8. und 9. Aug. je 3mal täglich 0,05 g Acid. tannic. und $\frac{2}{3}$ Levuretabletten, am 10. und 11. Aug. je 3mal 0,5 g Tannalbin und $\frac{2}{3}$ Levuretabletten, ohne Besserung der enteritischen Symptome. — Vom 9. Aug. an $\frac{1}{2}$ Milch: 5-proz. Milchezuckerwasser.

Exitus am 13. Aug. — Die in den letzten Tagen ante mortem entleerten schleimig-blutigen Stühle hatten außer sehr vielen Leukocyten neben einzelnen dem *B. per-*

1) Ueber die Bakterien des Verdauungstraktus beim Hunde. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. LII. 1907. p. 95.)

fringens ähnlichen Stäbchen und wenig Kokken vorwiegend *B. coli* enthalten (Sektionsdiagnose: Atrophie, katarrhalische Entzündung des Dün- und Dickdarms).

Darmuntersuchung, 1 Stunde post mortem: In allen Darmteilen dünnflüssiger, schleimiger saurer Inhalt mit einigen hellgelben Faecespartikelchen.

Oberes Jejunum: Ausstrich: Kokken, grampositive und vereinzelte gramnegative Kurzstäbchen.

Kultur: *B. coli* (*B. lactis aërogenes*?), *Enterococcus*, *B. exilis*, Hefe (*Levuretin*!).

Dünndarm — Mitte: Ausstrich: wie vorher.

Unteres Ileum: Ausstrich: Gemischte Kuhmilchstuhlflora mit vielen gramnegativen Stäbchen (*B. coli*).

Kultur: *B. Lesage* (s. o.), *B. coli*, *Enterococcus*, *B. exilis*, *B. perfringens*, fusiforme Bacillen (in der 1. Agarverdünnung).

Coecum: Ausstrich: Ueberwiegend gramnegative Vibrionen mit gemischter Kuhmilchstuhlflora.

Colon transversum: Ausstrich: Gleiches Bild wie im Coecum, außerdem zahlreiche Leukocyten.

Kultur: *B. Lesage*, *B. coli*, *Enterococcus*, *B. exilis*, *B. perfringens*?, fusiforme Bacillen (1. Verdünnung), Hefe (*Levuretin*!).

Nach diesen Fällen beurteilt, scheint bei der follikulären Enteritis das Bakterienbild des Darmes, dem bei der Dyspepsie, mit vorwiegendem Befund von gramnegativen Stäbchen (*B. coli*, *B. lactis aërogenes*) sehr nahe zu stehen, trotzdem das Auftreten von zahlreichen Leukocyten im Ausstrichpräparat aus dem Dickdarminhalte und dem Stuhle, ebenso wie das klinische Bild auf eine gänzlich verschiedene Darmaffektion hindeutet. Der Unterschied in beiden Krankheitsbildern beruht wohl darin, daß es sich bei der follikulären Enteritis um eine durch das *B. coli* (*B. lactis aërogenes*?) — als primären ätiologischen Faktor, der allerdings eine schon erkrankte Schleimhaut leichter befällt — hervorgerufene Erkrankung der Dickdarmschleimhaut (analog der Dysenterie) zu handeln scheint (*Colicocolitis-Escherich*), während wir oben bei den dyspeptischen Störungen das vermehrte Wachstum der gramnegativen Bakterien im Darminhalte stets als sekundäres, auf eine (andersartige) Schädigung des Digestionstraktus folgendes Moment angesprochen haben. —

Am Schlusse dieser Untersuchungen über die Flora der einzelnen Abschnitte des normalen und pathologisch veränderten Säuglingsdarmes sei der Vollständigkeit halber hinzugefügt, daß die angeführten Untersuchungsbefunde No. 1—25 (arabische Ziffern) sämtliche Todesfälle darstellen, deren Darminhalt im Laufe des Sommers 1907 auf der Straßburger Kinderklinik zur bakteriologischen Untersuchung gekommen sind. Ich verdanke die Ueberlassung dieser Fälle meinem früheren Chef, Herrn Prof. O. Kohts, dem ich hierfür meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

III. Zusammenfassung.

1) Ein strenger Unterschied zwischen physiologischer und Kuhmilchstuhlflora des Säuglings läßt sich nicht durchführen. Es gelingt in sehr vielen Fällen von künstlicher Ernährung (Milch: Wasser- oder Milch: Mehlmischungen mit Milchzuckerzusatz), beim Säugling eine der physiologischen (*B. bifidus*-)Flora sehr nahekommende Stuhlflora zu erhalten.

2) Die physiologische Stuhlflora wird (falls keine stärkeren Durchfälle bestehen oder auftreten) beim künstlich genährten Säugling leichter hervorgerufen durch Verabreichung von Milchwassers, von reinen Mehl- (Reis-, Hafer-)Abkochungen mit oder ohne Milchwasserszusatz und von Malzsuppe.

3) Der bei künstlicher Ernährung auftretende rein weiße, seifig

glänzende (nicht immer feste) Stuhl ist ein durch Darreichung von Lävulose (oder Rohrzucker) entstehender Stuhl, in dessen Flora der *B. perfringens* (unbewegliche dimorphe Buttersäurebacillus) in großer Zahl vorkommt; der „physiologische“ *B. bifidus*-Stuhl ist ein Dextrose-Stuhl.

4) Durch einige medikamentös verabreichte Substanzen (*Acidum lacticum*, Laktobacillin, Hefe) läßt sich bei entsprechender Regelung der Diät und eventueller Bekämpfung der Durchfälle das Auftreten der *B. bifidus*-Flora im Säuglingsstuhle in vielen Fällen beschleunigen.

5) Die Darmflora des darmgesunden künstlich (und wahrscheinlich auch des natürlich) genährten Säuglings ist eine 3-fache:

die Flora des Dünndarms, vorwiegend bestehend aus dem *Enterococcus* (identisch oder nahe verwandt mit dem *Streptococcus acidilactici*),

die Dickdarmflora, deren wichtigster Vertreter der *B. bifidus* ist, und

in beiden Darmabschnitten im wandständigen Schleime (in nach unten zunehmender Häufigkeit) der *B. perfringens*.

Dem *B. exilis*, *B. lactis aërogenes*, *B. coli* im Dünndarm, *B. coli*, *B. acidophilus* und den übrigen Bakterien der sogenannten „Kuhmilchstuhlflora“ (außer dem *Enterococcus B. bifidus* und *B. perfringens*) kommt normalerweise nur eine sekundäre Bedeutung zu.

6) In pathologischen Fällen verändert sich die Darmflora dergestalt, daß bei Dyspepsieen und bei der Enteritis follicularis (in verschiedener Weise) die gramnegativen Bakterien — *B. coli*, *B. lactis aërogenes* — im ganzen Darmtraktus in den Vordergrund treten, während beim Enterokatarrrh der *B. perfringens* zusammen mit dem *B. coli* (Symbiose) das Bild der Darm- und Stuhlflora beherrscht.

Bei Dyspepsieen und Enterokatarrrhen ist diese Veränderung der Darmflora ein sekundärer Prozeß (nach einer primären — alimentären oder anderen — Schädigung), der aber zum Krankheitsbild gehört und dasselbe beeinflußt.

Marburg, Anfang März 1908.

Nachdruck verboten.

Ueber eine nach Genuss von Leberwurst beobachtete Fleischvergiftung und deren Erreger.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Rostock.
Direktor: Prof. Dr. Pfeiffer.]

Von Stabsarzt Dr. Riemer,
Privatdozent für Hygiene an der Universität zu Rostock.

Verlauf und Entstehung.

Am 30. November und in den ersten Tagen des Dezember 1907 kamen in Rostock zahlreiche Krankheitsfälle zur Beobachtung, die sich auf einen bestimmten Stadtteil beschränkten. Die Erscheinungen, unter welchen die betreffenden Personen erkrankten, bestanden zunächst in

Störungen von seiten des Magendarmkanales. Es traten starkes Erbrechen und zahlreiche dünnflüssige Stuhlentleerungen auf, die in kurzer Zeit ein großes Schwächegefühl hervorriefen. Am 1. oder 2. Krankheits-tage stellte sich in fast allen Fällen auch eine Erhöhung der Kör-per-wärme ein; Temperaturen über 39°C waren nichts Seltenes. Während das Erbrechen meistens sehr bald verschwand, blieben die Durchfälle gewöhnlich tagelang bestehen. Auch das Fieber fiel in der Mehrzahl der Fälle am 3. oder 4. Krankheitstage ab. Der Puls war bei fast allen Erkrankten stark beschleunigt, vielfach auch noch nach dem Absinken des Fiebers. Ältere Personen hatten nach dem Aufhören der akuten Krankheitserscheinungen noch längere Zeit an den Folgen einer zurück-gebliebenen Herzschwäche zu leiden. Alle Kranken waren in den ersten Tagen völlig appetitlos. Einige klagten über große Trockenheit im Munde, einzelne bekamen sogar eine starke Anschwellung der Zunge, so daß ihnen das Sprechen sehr erschwert oder fast unmöglich gemacht war. Auch vereinzelte nervöse Störungen, in Halluzinationen bestehend, machten sich bemerkbar. Im allgemeinen erstreckte sich die Dauer der Krankheit über 4—12 Tage¹⁾. Unter den 63 Personen, welche von diesen Krankheitserscheinungen befallen waren, kam kein Todesfall vor, trotzdem einige sehr schwer erkrankt waren.

Das gleichzeitige und plötzliche Auftreten einer derartigen Massen-erkrankung mußte notwendig auf eine gemeinsame Infektionsquelle hin-weisen, zumal nur ein bestimmter Stadtbezirk betroffen war. Die Nach-forschungen, die daraufhin angestellt wurden, führten zu dem Ergebnis, daß alle Erkrankten Leberwurst gegessen hatten, die aus einem Delika-tessegeschäft des erwähnten Stadtteiles bezogen worden war. Dasselbe hatte am 29. Nov. 1907 von einem Gute bei T. in Pomm. eine Sendung frischer Leberwürste bekommen, die zum größten Teil noch im Laufe desselben Tages an die einzelnen Kunden verkauft wurden. Dieses Gut hatte dem betreffenden Kaufmann schon seit Jahren derartige Wurst-waren geliefert, die sich stets durch eine vorzügliche Beschaffenheit aus-gezeichnet hatten. Die Vermutung, daß durch den Genuß der Leber-wurst die Erkrankungen verursacht waren, wurde nicht allein von den behandelnden Aerzten, sondern auch von dem Kaufmann ausgesprochen, der selbst nebst einigen Familienmitgliedern danach erkrankt war. Um weiterem Unheile vorzubeugen, schickte er sofort zu seinen Kunden und ließ vor dem Genuß der Wurst warnen. Diesem Umstande ist es wohl zuzuschreiben, daß die Zahl der Krankheitsfälle nicht noch größer ge-worden ist. Gleichzeitig wurde auch das Gut, auf dem die Leberwurst hergestellt worden war, von dem Vorgefallenen in Kenntnis gesetzt. Die Gutsherrin, welche zufällig in Rostock anwesend war, kam auf die Nach-richt, daß sich an den Genuß der Leberwurst so zahlreiche Erkrankungen angeschlossen haben sollten, persönlich in das hygienische Institut, um eine Probe der Wurst untersuchen und ihre Unschädlichkeit feststellen zu lassen. Nach ihren Angaben stammten die zur Wurst verwendeten Lebern von völlig gesunden Schweinen. Die Tiere sollen vor der Schlachtung untersucht und völlig gesund befunden worden sein. In ausgeschlachtetem Zustande habe der zuständige Fleischbeschauer eine nochmalige Prüfung des Fleisches und der Organe vorgenommen und alles zur Verwendung freigegeben. Nur an einer Lunge habe sich an-geblich eine erkrankte Stelle befunden, die jedoch sofort entfernt worden

1) Die Schilderung dieses Krankheitsbildes verdanke ich der Freundlichkeit des Herrn Dr. Marung.

sei. Auch bei der Zubereitung der Wurst soll genau so wie in früheren Jahren verfahren worden sein. Die Gutsherrin will persönlich die Herstellung überwacht haben. Nach ihrer Schilderung geschah die Zubereitung der Wurst in folgender Weise: Die zur Verwendung kommenden Lebern wurden, nachdem sie eine Nacht lang mit den Lungen zusammen in einem Kessel gewässert worden waren, zunächst abgekocht und dann durch eine Fleischmaschine zu einem Brei zerkleinert. Danach erfolgte die Beimengung der nötigen Zutaten in Gestalt von Fett, Gewürzen etc. und eine gründliche Mischung durch Kneten. Von dieser so hergestellten Wurstmasse hat angeblich die Gutsherrin, wie auch deren Mamsell verschiedentlich gekostet, ohne daß sich danach irgendwelche Krankheitserscheinungen eingestellt haben. Darauf wurde die fertige Masse noch an demselben Tage in die Schweinedärme eingefüllt und nochmals leicht aufgekocht, so daß die Wurst jedoch auf dem Durchschnitt im Inneren noch einen geringen rötlichen Schimmer behielt. Die Würste blieben bis zum nächsten Tage bei kühler Temperatur liegen und wurden sodann zum Verkauf nach Rostock gebracht. Zwischen dem Tage der Schlachtung und der Fertigstellung der Würste sind nur 3 Tage verflossen.

Daß die Verkäuferin von der Vorzüglichkeit der Wurst völlig überzeugt war, beweist der Umstand, daß sie sowohl an verschiedene Verwandte Würste abgegeben, als auch im eigenen Haushalte davon Gebrauch gemacht hat. Auch auf dem Gute sind Erkrankungen nicht ausgeblieben. Es erkrankten von der Familie des Besitzers und dem Gutspersonal 10 Personen, so daß sich die Epidemie über eine Gesamtzahl von 73 Krankheitsfällen erstreckt. Ein Todesfall kam hier ebenfalls nicht zur Beobachtung.

Untersuchungsergebnis der Leberwurst.

Dem hygienischen Institut wurden vier Wurstproben zur Untersuchung eingeliefert. Eine derselben war von der Gutsherrin überbracht, die anderen drei stammten aus Familien, bei denen nach dem Genuße der Wurst Erkrankungen aufgetreten sein sollten. Sämtliche Proben boten äußerlich eine ganz vorzügliche Beschaffenheit dar. Weder Aussehen, Farbe noch Geruch ließen irgendwelche Anzeichen dafür erkennen, daß es sich um schlechte oder gar verdorbene Ware handelte. Die bakteriologische Untersuchung der Proben geschah in folgender Weise: Von allen wurden Ausstriche auf Agar und Aussaaten auf Lackmusmilchzuckernutroseagar nach v. Drigalski-Conradi gemacht. Obwohl es nach den bekannt gewordenen Krankheitserscheinungen unwahrscheinlich war, daß es sich um eine Wurstvergiftung handelte, die unter dem Bilde des sogenannten Botulismus verläuft, so wurden trotzdem Ausstriche auf Agar anaërob angesetzt. Ferner erhielten von dem in steriler Kochsalzlösung aufgeschwemmten Reste einer Wurst, nach deren Genuß 6 Personen erkrankt sein sollten, je 1 Kaninchen und 1 Meerschweinchen bis zu 2 ccm in die Bauchhöhle und 1 weiße Maus 0,5 ccm unter die Haut gespritzt. Andere Wurstteile wurden an weiße Mäuse verfüttert. Bei der Untersuchung der von den Wurstproben angefertigten Ausstrichpräparate fanden sich keine besonders charakteristisch aussehenden Mikroorganismen. Es waren in reichlicher Menge verschiedenartige Kokken und namentlich Kurzstäbchen vorhanden. Um allen Möglichkeiten begegnen zu können, wurde auch eine Prüfung der Wurst auf etwa vorhandene chemische Gifte vorge-

nommen. Sie ergab jedoch, daß Arsen und Phosphor nicht vorhanden waren.

Die beschickten Platten zeigten nach 24-stündigem Aufenthalt bei 37° C ein sehr üppiges Bakterienwachstum. Auf den Lackmusagar-platten fanden sich viele rot gefärbte Kolonien und auch reichlich solche, die in bezug auf Form und Farbe eine gewisse Aehnlichkeit mit den Kolonien von Typhus- bzw. Paratyphusbacillen darboten. Die nähere Prüfung ergab, daß sie aus kleinen, lebhaft beweglichen, gram-negativen Stäbchen bestanden. Auf den differentialdiagnostisch in Betracht kommenden Nährböden zeigten sie folgende Eigenschaften:

1) Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Gelatineplatte hat die Oberflächenkolonie Weinblattform, jedoch ist die Aderung nicht so ausgeprägt wie bei einer Typhuskolonie. Das Wachstum ist auch üppiger als das der letzteren.

2) Auf dem Agar bildet sich ein grau-weißer üppiger Pilzrasen, der von dem des *Bacterium coli* nicht zu unterscheiden ist.

3) Das Wachstum auf der Kartoffel ist wechselnd. Einige Kartoffeln lassen nur einen zarten, etwas feucht glänzenden, sich von der Oberfläche kaum abhebenden Rasen erkennen, während auf anderen ein üppiger grau-gelber Belag entsteht. Dieses verschiedene Verhalten wird wohl durch die ungleiche Beschaffenheit des Kartoffelnährbodens erklärt.

4) Milch wird nicht koaguliert. Nach mehrwöchigem Aufenthalt bei 37° C tritt jedoch eine Aufhellung und leichte Bräunung derselben auf. Die Reaktion wird deutlich alkalisch.

5) Die StICKkultur in Traubenzuckeragar zersprengt den Nährboden unter Gasbildung.

6) Neutralrotagar nach Rothberger (Mischkultur) wird unter Gasbildung zersprengt. Zugleich verwandelt sich das Rot in einen gelblich-grün fluoreszierenden Farbstoff.

7) Lackmusmolke färbt sich nach 24-stündigem Stehen bei 37° C unter gleichmäßiger Trübung zunächst rot. Bei längerem Aufenthalt im Brutschrank tritt vom 5.—6. Tage ab eine ständig zunehmende Blaufärbung auf, die bei weitem stärker wird als die des unbeschickten Kontrollröhrchens. Zugleich bildet sich an der Oberfläche ein blau gefärbtes Häutchen von krümeliger Beschaffenheit.

8) Bouillon wird gleichmäßig getrübt. Indolbildung läßt sich auch nach längerem Stehen im Brutschrank nicht nachweisen.

9) Auf Lackmusmilchzuckernutroseagar bilden sich blaue, etwas grau-weiß aussehende, undurchsichtige Kolonien.

Auf den beschickten Agarplatten konnten gleichfalls Kolonien, die aus Stäbchen mit den eben geschilderten Wachstumseigentümlichkeiten bestanden, nachgewiesen werden. Die anaërob angesetzten Kulturen ergaben das Wachstum derselben Stäbchenart, allerdings in weniger üppigem Maße.

Von den infizierten Tieren starben nach 4-tägiger Krankheitsdauer das Kaninchen und die Maus, während das Meerschweinchen erst 2 Tage später zugrunde ging. Die mit der Wurst gefütterten Mäuse blieben am Leben. Auffallende Krankheitserscheinungen, struppiges Aussehen, mangelnde Freßlust wurden nicht beobachtet. Die der Injektion erlegenen Versuchstiere waren an einer septikämischen Erkrankung eingegangen. Die Organe boten makroskopisch keine bemerkenswerten krankhaften Veränderungen dar. Bei dem Meerschweinchen und der Maus fand sich eine deutliche Vergrößerung der Milz. Mikroskopisch

konnten in allen Organen und im Blut der Tiere Bakterien von dem Aussehen der beschriebenen Kurzstäbchen in großer Zahl nachgewiesen werden. Aussaaten auf Agar ergaben fast bei allen das Wachstum derselben in Reinkultur. Es war daher anzunehmen, daß dieser vorwiegend vorhandene Mikroorganismus den Tod der Versuchstiere herbeigeführt hatte. Eine Vergleichung seiner kulturellen Eigenschaften mit denjenigen des aus der Leberwurst gezüchteten Bakteriums ergab eine völlige Uebereinstimmung beider. Eine Bestätigung derselben konnte außerdem noch durch das Verhalten der gewonnenen Stämme zu einem agglutinierenden Serum erbracht werden. Letzteres wurde hergestellt durch Immunisierung eines Kaninchens mit dem aus der Maus isolierten Bakterium. Der Titer dieses Immunserums betrug 1 : 64000. Sämtliche aus den Wurstproben und den Tierversuchen isolierten Stämme wurden bis zur Titergrenze agglutiniert.

Die Eigenschaften des durch die Züchtung aus den Wurstproben und den Tierversuchen gewonnenen Mikroorganismus ließen es nicht mehr zweifelhaft erscheinen, daß es sich um ein zur Typhus-Coli-Gruppe gehöriges, und zwar dem Paratyphusbacillus B ähnliches Bakterium handelte. Es blieb noch die Prüfung durch die entsprechenden Immunsere in bezug auf die Agglutinationsfähigkeit zur weiteren Identifizierung übrig. Bevor diese jedoch vorgenommen wurde, war noch der Nachweis zu erbringen, daß der Mikroorganismus auch bei den erkrankten Personen die Krankheitserscheinungen ausgelöst hatte.

Bakteriologisches Untersuchungsergebnis der Stühle und des Blutserums von Kranken.

Infolge der günstigen äußeren Verhältnisse, Vorkommen der Epidemie am Orte der Untersuchungsstelle und Verbindung mit den behandelnden Aerzten war es möglich, von 4 Kranken Stuhlproben zur Untersuchung zu erhalten. Dieselben wurden behandelt wie solche bei der Untersuchung auf Typhus- und Paratyphusbacillen und nach dem v. Drigalski-Conradischen Verfahren auf Lackmusagarplatten ausgesät. Aus allen Proben waren nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank in großer Zahl kleine blau gefärbte Kolonien gewachsen, die aus beweglichen gramnegativen Kurzstäbchen bestanden. Eine weitere Prüfung auf den verschiedenen Nährböden ergab, daß sie dieselben Eigenschaften wie der aus den Wurstproben gezüchtete und durch den Tierversuch gewonnene Mikroorganismus zeigten. Auch ihr Verhalten gegenüber dem erwähnten Kaninchenimmunserum war dementsprechend. Drei Stämme wurden von demselben bis zur Titergrenze, ein Stamm noch durch eine Serumverdünnung von 1 : 30000 agglutiniert. Es war somit dasselbe Bakterium in dem Nahrungsmittel, welches die Kranken zu sich genommen hatten und in deren Ausleerungen mit Sicherheit festgestellt. Wenn es nach diesem Ausfall der Untersuchung auch kaum mehr fraglich sein konnte, daß in dem isolierten Bakterium der Krankheitserreger gefunden war, so blieb jedoch noch der Einwand abzuweisen, daß es sich bei diesem Befund um ein zufälliges Zusammentreffen dieses Kurzstäbchens mit den geschilderten Krankheitserscheinungen handelte. Es mußte nachgewiesen werden, daß bei den Kranken die bei bakteriellen Infektionen entstehenden Antikörper im Blute gebildet waren. Der Beweis dafür war unschwer durch die Feststellung der etwa vorhandenen Agglutinationskraft des Blutserums dieser Kranken zu erbringen.

Dem hygienischen Institut wurde von 10 Kranken Blut zur An-

stellung der Agglutinationsprobe zur Verfügung gestellt¹⁾. Da genügende Mengen Blutserum vorhanden waren, konnte die makroskopische Methode gewählt werden, Anstellung der Proben im Reagensglase mit in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten und abgetöteten Bakterien. Der Ausfall wurde durch das mikroskopische Präparat im hängenden Tropfen kontrolliert. Zur Ausführung der Agglutinationen diente der aus der eingegangenen Maus isolierte Stamm. Die Entnahme des Blutes hatte bei den einzelnen Fällen am 8.—12. Krankheitstage stattgefunden. Das Ergebnis der Untersuchung ist in folgender Tabelle zusammengestellt:

Personen	Verdünnungen				Bemerkung
	1 : 20	1 : 200	1 : 400	1 : 800	
1) Fr. D.	+	+	—	—	am 8. Krankheitstage entnommen
2) C. W.	+	+	—	—	
3) C. Kl.	+	+	+	—	am 10. Krankheitstage entnommen
4) H. Ko.	+	+	+	—	
5) Fr. P.	+	+	+	—	am 11. Krankheitstage entnommen
6) Fr. J.	+	+	+	—	
7) H. P.	+	+	+	+	am 12. Krankheitstage entnommen
8) H. A.	+	+	+	—	
9) Fr. K.	+	+	+	—	am 12. Krankheitstage entnommen
10) Fr. Q.	+	+	+	+	
11) Normal. Menschen- blutserum	—	—	—	—	

Diese Uebersicht zeigt, daß die untersuchten Kranken in ganz spezifischer Weise auf die gefundenen Mikroorganismen reagiert hatten, während derselbe von normalem Menschenblutserum völlig unbeeinflusst blieb. Wenn es auch nicht möglich war, das Blut aller Erkrankten auf seine agglutinierende Fähigkeit zu untersuchen, so nötigt doch der positive Ausfall bei der Prüfung von 10 beliebig ausgewählten Blutproben ohne weiteres zu dem Schlusse, daß auch das Blut der anderen Kranken dieselbe Reaktion in mehr oder weniger starkem Grade gezeigt haben wird.

Identifizierung des gefundenen Krankheitserregers.

Aus den angeführten Wachstumseigentümlichkeiten des gefundenen Bakteriums geht hervor, daß es sich um ein Glied der Typhus-Coli-Gruppe handelte, welches mit dem Paratyphusbacillus B identisch zu sein schien. Es wäre damit zum Typus I der Erreger von Fleischvergiftungen aus dieser Gruppe zu rechnen gewesen. Da jedoch auch der Typus II, als dessen Vertreter das echte Bacterium enteritidis Gärtner anzusehen ist, dieselben Wachstumseigentümlichkeiten zeigt und mit den uns zu Gebote stehenden kulturellen Hilfsmitteln vom Typus I nicht unterschieden werden kann, so lag ebenfalls die Möglichkeit vor, daß ein Bacterium enteritidis Gärtner die Fleischvergiftung verursacht haben konnte. Um zu entscheiden, welchem Typus der isolierte Mikroorganismus zugezählt werden mußte, wurde eine Prüfung seines Verhaltens gegenüber verschiedenen agglutinierenden Seris aus der Typhus-Coli-Gruppe vorgenommen.

1) Dieselben verdanke ich der Liebenswürdigkeit der Herren Sanitätsräte Dr. Dugge, Dr. Lechler, sowie des Herrn Privatdozenten Dr. Kühn.

Ebenso wie bei der Bestimmung der Agglutinationskraft der Sera der Kranken wurden auch hier die Agglutinationsproben makroskopisch im Reagensröhrchen angesetzt und durch den hängenden Tropfen kontrolliert. Um den Eintritt und Verlauf der Agglutination zu beschleunigen, kamen die mit der fertigen Serumbakterienmischung beschickten Reagensgläser anstatt in den Brutschrank in ein Wasserbad von 37° C. Nach 2 Stunden war die Reaktion meist völlig beendet und so deutlich, daß auch nach längerem Stehen keine wesentliche Aenderung mehr eintrat.

Das Ergebnis der einzelnen Prüfungen ist in folgenden Tabellen zusammengestellt:

I. Agglutinierendes Typhusserum.
Titer 1:8000.

Bakterien	Verdünnungen			
	1 : 50	1 : 400	1 : 3200	1 : 8000
Bact. paratyphi B	+	+	+	—
Fleischvergiftung Rostock	+	+	—	—
Bact. enteritidis Gärtner	+	+	—	—
Bact. suipestifer	+	—	—	—

II. Agglutinierendes Serum von Bact. paratyphi B.
Titer 1:32 000.

Bakterien	Verdünnungen			
	1 : 1600	1 : 4000	1 : 8000	1 : 32 000
Bact. typhi	+	+	—	—
Bact. enteritidis Gärtner	+	—	—	—
Fleischvergiftung Rostock	+	—	—	—
Bac. suipestifer	+	+	+	—

III. Agglutinierendes Serum von Bact. enteritidis Gärtner.
Titer 1:64 000.

Bakterien	Verdünnungen			
	1 : 150	1 : 200	1 : 8000	1 : 64 000
Bact. typhi	+	+	+	—
Bact. paratyphi B	+	+	—	—
Fleischvergiftung Rostock	+	+	+	+
Bac. suipestifer	+	—	—	—

IV. Agglutinierendes Serum vom Erreger der Rostocker
Fleischvergiftung. Titer 1:64 000.

Bakterien	Verdünnungen				
	1 : 50	1 : 400	1 : 500	1 : 8000	1 : 64 000
Bact. typhi	+	+	+	+	—
Bact. paratyphi	+	+	—	—	—
Bact. enteritidis Gärtner	+	+	+	+	+
Bac. suipestifer	+	+	+	—	—
Bact. coli	+	—	—	—	—

V. Agglutinierendes Serum vom Bac. suipestifer.
Titer 1:60 000.

Bakterien	Verdünnungen			
	1 : 50	1 : 200	1 : 12 800	1 : 60 000
Bact. typhi	+	+	—	—
Bact. paratyphi B	+	+	+	—
Bact. enteritidis Gärtner	—	—	—	—
Fleischvergiftung Rostock	—	—	—	—

Bei einer Vergleichung dieser Uebersichten ergibt sich folgendes: Die mit dem Erreger der Rostocker Fleischvergiftung und dem Gärtnerischen Bacillus hergestellten Sera sind für diese beiden Stämme vollkommen gleichwertig. Ferner werden dieselben durch die anderen agglutinierenden Sera in der gleichen Höhe der Verdünnung beeinflusst. Aus diesem Verhalten resultiert notwendigerweise der Schluß, daß der Stamm Rostock mit dem Bact. enteritidis Gärtner als identisch anzusehen und dem Typus II der zur Typhus-Coli-Gruppe gehörenden Erregern von Fleischvergiftungen zugezählt werden muß.

Von den Versuchen, die mit Reinkulturen des Stammes Rostock angestellt wurden, sei kurz erwähnt, daß Kaninchen und Meerschweinchen nach Einverleibung von 1 mg 24 Stunden alter Bakterienmasse nach 48 Stunden an einer Septikämie zugrunde gingen. Bei weißen Mäusen genügte 0,5 mg, subkutan eingespritzt, um denselben Erfolg zu erzielen. Letztere sterben auch nach Verfütterung von Bakterienkulturen mit Brot nach mehrtägiger Krankheit. Dagegen gelang es nicht, Mäuse durch Injektion eines keimfreien Filtrates einer 10 Tage alten Bouillonkultur zu töten.

Es bleibt nun noch die Frage zu erörtern, auf welche Weise der Mikroorganismus in die Leberwurst hineingelangt ist. Von den verschiedenen Möglichkeiten, die hierbei in Betracht zu ziehen sind, liegt wohl die Annahme am nächsten, daß der Krankheitserreger in einem der Schlachttiere enthalten gewesen ist. Obwohl die Schweine, wie anfangs erwähnt, vor der Schlachtung und in ausgeschlachtetem Zustande von dem Fleischbeschauer für völlig gesund erklärt worden sind, so darf doch der Umstand nicht außer acht gelassen werden, daß sich an einer Lunge eine kranke Stelle befunden haben soll, die entfernt werden mußte. Um was es sich bei dieser Erkrankung gehandelt hat, ist leider nicht mehr zu ermitteln gewesen. Es ist immerhin denkbar, daß in diesem Krankheitsherde die Infektionsquelle der Wurst zu suchen ist. Bei der Erwägung dieser Möglichkeiten ist jedoch zu berücksichtigen, daß uns meines Wissens bis jetzt über das Vorkommen des Bact. enteritidis Gärtner bei Schweinen so gut wie gar nichts bekannt ist. Bei Kälbern scheint es jedoch häufiger vorzukommen, als man bisher anzunehmen pflegte. Im Dezember vorigen Jahres wurden dem hiesigen hygienischen Institut Organe von 8 Kälbern, die an Kälberruhr und -pneumonie erkrankt gewesen sein sollten, zur Untersuchung auf Krankheitserreger übersandt. Bei 3 Fällen von Kälberruhr und 1 Fall von Kälberpneumonie konnte jedesmal ein Mikroorganismus gezüchtet werden, der in bezug auf seine kulturellen Eigenschaften und sein Verhalten bei der Agglutination eine genaue Uebereinstimmung mit dem Erreger der hiesigen Fleischvergiftung zeigte. Da die Schweine in dem vor-

liegenden Falle keine Anzeichen einer Allgemeinerkrankung gezeigt haben, so wäre dem Bact. enteritidis bei dieser Tierart höchstens die Fähigkeit zu einer lokalen Erkrankung oder gar nur ein saprophytisches Dasein, vielleicht im Darm, zuzusprechen. Die große Bedeutung, welche die Feststellung des Zusammenhanges von derartigen Fleischvergiftungsepidemien mit Krankheiten der Schlachttiere besitzt, hat Herrn Prof. Dr. Pfeiffer, den Direktor des hiesigen hygienischen Institutes, veranlaßt, an Ort und Stelle Nachforschungen über die Quelle der Infektion anzustellen. Dieselben haben jedoch zu keinem sicheren Ergebnis geführt, weil die Schlachtung schon zu lange Zeit zurücklag. Auch die bakteriologische Untersuchung der noch vorhandenen, allerdings bereits eingepökelten Fleischteile, Schinken und Darmschlingen, hatte ein negatives Resultat. In keiner der untersuchten Proben konnte der Krankheitserreger nachgewiesen werden.

Zunächst scheint die Menge der pathogenen Keime bei der Herstellung der Wurst nicht groß gewesen zu sein, denn die Gutsherrin und ihre Mamsell haben verschiedentlich von der Wurstmasse gekostet, ohne daß sie danach krank geworden sind. Später ist doch wohl eine erhebliche Vermehrung erfolgt, da bereits 1—2 Scheiben der Leberwurst genügt haben, um schwere Krankheitserscheinungen auszulösen. Vermutlich haben sich die nach dem Abkochen nur spärlich vorhandenen Bakterien vielleicht unter dem Einflusse der Temperatursteigerung im Innern beim zweiten Kochen später stark vermehrt. Wenn somit auch bei der Rostocker Fleischvergiftungsepidemie die Entstehung der Krankheitsfälle nach dem Genusse der Leberwurst in der einwandfreiesten Weise nachgewiesen werden konnte, so war es doch leider nicht möglich, mit Sicherheit die Herkunft des Krankheitserregers aus einer menschlichen oder tierischen Erkrankung aufzuklären.

Nachdruck verboten.

Recherches expérimentales sur une sarcine pathogène.

[Institut d'hygiène expérimentale et de parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par B. Galli-Valerio.

Avec 2 figures.

Le genre *Sarcina* Goodsir, qui est pourtant si répandu dans la nature, ne semblait, jusqu'à ces derniers temps, jouer aucun rôle important au point de vue de la pathologie de l'homme et des animaux. Ce n'est qu'en 1899 que Loewenberg¹⁾ décrivait pour la première fois une sarcine pathogène pour le cobaye, le lapin et la souris blanche, sarcine qu'il avait isolée de cavités nasales d'une femme atteinte d'ozène. En 1901 Schläfrig²⁾ isolait aussi d'un cas d'ozène une sarcine analogue, sarcine que Macé³⁾ identifiait avec celle de Loewenberg en l'appelant *Sarcina* Loewenbergi. En 1902 Nagano⁴⁾ isolait d'un

1) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. p. 358.

2) Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 42 (cité dans Centralbl. f. Bakt. etc. Ref. Bd. XXXI. p. 235.)

3) Traité pratique de bactériologie. 1904. 5^{me} éd. p. 512.

4) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. p. 327.

abcès de l'ovaire chez la femme, une nouvelle sarcine pathogène pour lapins et souris, mais non pour le cobaye, sarcine présentant une certaine analogie avec le gonocoque (*Sarcina Naganoi* Macé).

Enfin Lehmann et Neumann¹⁾, plaçant définitivement dans le genre *Sarcina*, *Micrococcus tetragenus*, portaient à trois le nombre des sarcines pathogènes. Les recherches sur les sarcines pathogènes, si on fait abstraction de *S. tetragena* étant, comme on le voit, très peu nombreuses, j'exposerai ici les résultats des recherches expérimentales que j'ai pratiquées avec une sarcine pathogène, que j'ai isolé chez l'homme.

J'ai isolé cette sarcine chez un patient de mon collègue, Mr. le Prof. Mermoud, Directeur de la clinique oto-laryngologique de l'Université de Lausanne, à qui j'adresse ici mes plus vifs remerciements.

Le patient en question, un Russe âgé de 21 ans, était atteint d'une pemphigus à répétition, se localisant surtout aux muqueuses de la bouche et du nez.

La maladie avait abouti à l'occlusion complète, vers leur milieu, des deux narines, qui étaient remplies de mucosités blanchâtres filantes et de croûtes, mais qui ne dégagèrent absolument aucune mauvaise odeur. Les choanes étaient libres. Sur la partie postérieure du pharynx, on notait des mucosités blanchâtres, filantes, analogues à celles des narines.

Le matériel que j'ai eu l'occasion d'examiner à deux reprises différentes (24 octobre et 8 novembre 1907), était constitué par des mucosités du nez, par des lambeaux de muqueuse nasale excisés, par des mucosités du pharynx.

Soit les mucosités du nez, soit celles du pharynx, frappaient immédiatement par le fait de leur grande viscosité. Si l'on y trempait une aiguille de platine, en la retirant ou en détachait de longs filaments visqueux, élastiques.

A l'examen microscopique des mucosités du nez et du pharynx, comme du raclage des lambeaux de muqueuse, séchés sur porte-objet et colorés par une goutte de fuchsine phéniquée diluée dans une goutte d'eau, j'ai été immédiatement frappé par la présence, au milieu des globules de pus et des cellules épithéliales, d'une quantité innombrable de sarcines en paquets typiques, présentant ceci de particulier, qu'elles envoyaient tout autour d'elles des prolongements plus ou moins longs, plus ou moins ramifiés, qui en se croisant, formaient une sorte de treillis dont les nœuds étaient marqués par les paquets de sarcines. Dans les préparations colorées avec le bleu de méthylène au thymol, l'aspect était identique, mais le réseau de filaments moins coloré, et par conséquent moins net. Dans les préparations colorées par le Gram, les paquets de sarcines se coloraient fort bien, mais les filaments n'étaient plus visibles. Même en colorant après avec une solution aqueuse d'éosine, ces filaments n'apparaissaient plus que par ci par là et faiblement colorés en rose. Mais on remarquait alors presque toujours, autour de chaque paquet de sarcines, une auréole rose formant comme une capsule. Chaque élément de la sarcine présentait un diamètre de 1,5 à 2 μ . Toutes les sarcines étaient extracellulaires. Sur les coupes des petits lambeaux de muqueuse nasale que j'ai eu à ma disposition, j'ai trouvé les mêmes sarcines en couche épaisse à la surface et entre les cellules épithéliales.

Les cultures en plaques d'agar faites avec les mucosités du nez et avec les lambeaux de muqueuse nasale, m'ont donné exclusivement des

1) Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 3. Aufl. München 1904.

colonies de cette sarcine, tandis que celles faites avec les mucosités du pharynx m'ont donné à côté des colonies de sarcines quelques rares colonies de *M. pyogenes*. Cette sarcine se développait très lentement à une température de 18°—20°, très rapidement et abondamment à 36°—37°, et ses cultures présentaient les caractères suivants :

Sur plaque d'agar à 37° : Colonies de surface, rondes, fortement bombées, de 1—2—3—4 mill. de diamètre, blanchâtres, luisantes, d'aspect muqueux. Examinées au microscope à faible grossissement, elles présentaient une partie centrale plus sombre que la périphérie qui apparaissait formée par des amas de gros grains serrés les uns contre les autres, et délimitant un bord très régulier. Si on touchait les colonies avec une aiguille de platine, en soulevant celle-ci, on tirait de longs filaments visqueux, élastiques, et on pouvait parfois arriver à détacher la colonie en entière de la surface de l'agar. Colonies de profondeur, petites, rondes, granuleuses.

Sur plaque de gélatine à 20° : Colonies identiques à celles sur plaque d'agar, mais à développement plus lent. La gélatine n'était jamais liquéfiée.

En agar par piqûre à 37° : Il se formait d'abord au centre de la surface de l'agar une colonie ronde, colonie identique à celles sur plaque d'agar. Cette colonie s'étendait peu à peu, et présentait parfois des bords légèrement festonnés. En profondeur, série de petites colonies serrées les uns contre les autres, entourées d'une zone festonnée.

Sur agar incliné à 37° : Toute la surface se couvrait d'une couche blanchâtre, grasse, visqueuse, à bords festonnés, et il y avait dépôt blanchâtre dans l'eau de condensation.

En gélatine à 20° : En surface, colonie plus blanche que sur agar, occupant petit à petit toute la surface de la gélatine. En profondeur, ligne granuleuse formée par une série de petites colonies. La gélatine n'était pas liquéfiée, même après plusieurs mois.

En bouillon peptonisé à 37° : Le bouillon devenait d'abord uniformément trouble sans voile. Petit à petit il se formait au fond un dépôt blanchâtre, épais, qui se soulevait en spirale en agitant fortement l'éprouvette. Puis tout le bouillon devenait clair, et il ne restait plus que le dépôt blanchâtre qu'on pouvait tirer en longs filaments avec une aiguille de platine. Le bouillon présentait une réaction légèrement alcaline.

Sur pomme de terre à 37° : Il y avait d'abord une trainée de petites colonies rondes, bombées, blanchâtres, muqueuses, qui finissaient par confluer en une couche luisante, visqueuse, toute bosselée. L'aiguille de platine l'étendait en longs filaments.

Sur carotte à 37° : Pas de culture bien visible. La surface de la carotte apparaissait plus luisante et légèrement granuleuse. Si l'on raclait avec une aiguille de platine, on en soulevait de courts filaments, visqueux.

Sur betterave à fourrage à 37° : Il se formait une couche mince, blanchâtre, luisante, bosselée qui s'étirait en filaments avec l'aiguille de platine.

Dans le lait : Bon développement sans coagulation, même après des mois. Le lait devenait un peu visqueux, de sorte que l'aiguille de platine en soulevait des filaments très fins. La réaction était alcaline.

Cette sarcine ne se développait pas dans les couches profondes de l'agar glycosé 2%, ne faisait pas fermenter ni glycose ni lactose, les milieux au tournesol restaient bleus, ne donnait point d'indol (méthodes de Salkowski-Kitasato, d'Ehrlich-Böhme et de Crisafulli).

Les cultures ne dégagent absolument aucune odeur.

Si l'on pratiquait des examens microscopiques à frais de toutes ces cultures, on trouvait qu'elles étaient formées par une sarcine absolument immobile.

Les préparations séchées et colorées présentaient au microscope les caractères identiques à ceux que j'ai indiqués à propos de l'examen direct des mucosités et du raclage de la muqueuse nasale. Le réseau de filaments unissant les paquets de sarcines était surtout manifeste dans les cultures en milieux solides et surtout sur agar (fig. 1). Dans les préparations par impression, ils formaient un véritable filet dans lequel étaient englobées les sarcines.



Fig. 1.

Des cultures du 24 octobre 1907, examinées le 30 janvier 1908, présentaient encore au microscope les mêmes caractères, mais les filaments étaient un peu moins nets. Une de ces cultures, repiquée dans les différents milieux indiqués, a redonné des cultures macroscopiquement et microscopiquement identiques à celles isolées de l'homme.

Les filaments présentés par cette sarcine ne sont pas du tout des cils, car cette sarcine est immobile, car ils se colorent par les moyens de coloration ordinaires, et en outre ils ne présentent pas du tout des caractères des cils, étant épais, de formes très irrégulières, et ramifiés. Il s'agit tout simplement d'une substance visqueuse abondante qui englobe les sarcines et qui s'étire en filaments dès qu'on étale la culture sur le porte-objet ou sur le couvre-objet. En effet, si l'on colore par le Gram et qu'après on fait agir une solution aqueuse d'éosine, les filaments ne se voient presque plus, mais autour de chaque paquet de sarcines on voit une véritable capsule rose. Ce même aspect se voit si on colore la sarcine dans les mucosités de l'homme, dans le sang, dans les organes, et dans le pus des animaux, expérimentalement infectés, par la méthode de Gram et l'éosine.

Quoi qu'il en soit, l'aspect de cette sarcine, pourvue de prolongements, est tellement typique, qu'il est très facile de la reconnaître partout, surtout lorsqu'elle y est en grand nombre, car alors les prolongements s'entrecroisant, forment un réseau caractéristique.

Avec cette sarcine, j'ai pratiqué des inoculations sur des animaux de laboratoire, et je diviserai le résultat de ces inoculations en 5 catégories suivant l'origine de la culture inoculée.

a) Inoculations avec des cultures provenant directement de l'homme.

Exp. I. 28 X. 1907. Inoculé 1 c.c. de culture en bouillon:

Au lapin No. 1: Sous la peau de la face interne de la cuisse droite. Aucun trouble morbide appréciable.

Au cobaye No. 2: Sous la peau de la face interne de la cuisse droite. 31 X. Tuméfaction de la partie inoculée. 3 XI. Enorme tuméfaction idem, très douloureuse à la pression. 4 XI. Il se forme une petite ouverture dans la tuméfaction. Une petite incision donne issue

à du matériel puriforme, sanguinolent, épais, filant. À l'examen microscopique, on trouve entre les globules de pus d'innombrables sarcines à filaments qui se croisent, formant un véritable réticule. Quelques rares sarcines sont englobées par des phagocytes et se colorent fort mal. Les cultures de ce pus donnent la sarcine ordinaire à l'état pur. L'abcès s'étant vidé, l'animal semble se rétablir.

À *Mus rattus* No. 3: Sous la peau de la face externe de la cuisse droite. 30 X. Au point inoculé, tuméfaction de la dimension d'une petite noisette, rouge et douloureuse à la pression. 31 X. La tuméfaction est plus grosse. Incisée, elle donne issue à un pus sanguinolent, épais, filant, avec d'innombrables sarcines à caractères ordinaires, soit à l'examen microscopique, soit par les cultures. 4 XI. L'abcès est complètement vidé. Il reste une vaste surface ulcérée.

À *Mus decumanus* No. 4: Sous la peau de la face interne de la cuisse droite. Aucun trouble appréciable.

Exp. II. Avec une culture en bouillon j'ai inoculé le 5 XI. 07:

À *Mus rattus* No. 5: 1 c. c. dans la cavité abdominale. 19 XI. Mort la nuit du 18 au 19. À l'autopsie: Cavité abdominale remplie d'un exsudat louche avec de nombreux flocons fibrineux adhérents à la surface du foie et de la rate. L'exsudat est rempli de sarcines toutes extracellulaires, présentant, soit à l'examen microscopique, soit dans les cultures, les caractères typiques ordinaires.

À *Mus rattus* No. 6: Quelques gouttes sous la muqueuse de l'aile de la narine droite. 26 XI. Tuméfaction de la dimension d'un grain de chanvre au point inoculé. 10 XII. Mort la nuit du 9 au 10. À l'autopsie: Petit abcès à sarcines au point inoculé. Hyperémie de la muqueuse de la narine droite. Hyperémie des méninges cérébrales. Cultures positives de sarcines de l'abcès de la narine droite et des méninges.

Au rat blanc No. 7: 1 c. c. sous la peau de la face interne de la cuisse droite. 11 XI. Tuméfaction de la partie inoculée. 15 XI. Mort à 11 $\frac{1}{2}$ h. du matin. À l'autopsie: Petit abcès à sarcines au point inoculé. Forte tuméfaction de la rate. Cultures positives de sarcines de l'abcès, de la rate et du cœur.

Exp. III. Avec une culture en bouillon qui date du 30 X., inoculé le 25 I. 08.

Le cobaye No. 8: 1 c. c. sous la peau de la face interne de la cuisse droite. 27 I. Légère tuméfaction de la partie inoculée. 30 I. Forte tuméfaction. Il se forme une petite ouverture qui donne du pus filant à nombreuses sarcines du type ordinaire. Il reste une ulcération au point inoculé. 11 II. L'animal qui avait beaucoup maigri et était très triste ces derniers jours est mort dans la nuit du 10 au 11. À l'autopsie: Fort amaigrissement. Ulcère à la face interne de la cuisse droite. Le tissu conjonctif du voisinage présente de l'infiltration hémorragique et quelques flocons de pus. Tuméfaction de la rate et congestion du foie. Présence de sarcines à caractères typiques dans l'ulcère et dans le pus. Rares dans le foie, rate et sang du cœur. Cultures positives du pus et de ces différents organes.

b) Inoculations avec des cultures provenant du cobaye No. 2.

Exp. I: Avec une culture en bouillon inoculé le 9 XI. 07:

À *Mus decumanus* No. 4: (déjà inoculé le 28 X. 07): Quelques gouttes sous la muqueuse de l'aile de la narine droite. 11 XI. Tuméfaction de l'aile de la narine droite. 18 XI. La tuméfaction a atteint la dimension d'un petit pois, elle s'est ulcérée et l'ulcère s'est couvert

d'une croûte épaisse. Cette croûte, enlevée, on trouve une cavité remplie d'un pus épais, filant, sanguinolent, avec d'innombrables sarcines. 5 XII. Mort la nuit du 4. au 5. XII. À l'autopsie: Animal fortement amaigri. À la cuisse droite, au point inoculé le 28 X. il y a une petite poche avec quelques flocons de pus épais, filant, contenant plusieurs sarcines. La lésion nasale est desséchée. Foie congestionné. Rate tuméfiée. Cultures positives de sarcines du pus de la cuisse, du nez, sang du cœur, foie et rate.

À *Mus rattus* No. 3 (déjà inoculé le 28 X. 07): Quelques gouttes sous la muqueuse de l'aile de la narine droite. 13 XI. Mort à 5 h. après-midi. À l'autopsie: Animal amaigri. Ulcère à sarcines à la cuisse droite inoculée le 28 X. Hyperémie de la muqueuse de la narine droite avec quelques sarcines. Dans la cavité abdominale, hypochondre droit, il y a sous le péritoine un abcès ovoïde de 3 cm. de large sur 4 cm. de long, abcès au dessus duquel passe la corne droite de l'utérus. Cet abcès est rempli d'un pus jaunâtre, épais, filant, avec d'innombrables sarcines. Rate tuméfiée avec de rares sarcines. Cultures positives de sarcines de l'ulcère à la cuisse, de la narine droite, du pus de l'abcès, de la rate, et du cœur.

Au cobaye No. 2 (déjà inoculé le 28 X. 07): Quelques gouttes sous la muqueuse de l'aile de la narine droite. 15 XI. Fort amaigrissement. 28 XI. Les deux yeux présentent les paupières fermées, collées par un exsudat blanchâtre, épais, filant, avec de nombreuses sarcines formant par-ci par-là de véritables amas. Mort à midi. À l'autopsie: À la face interne de la cuisse droite, ulcère en dessous duquel

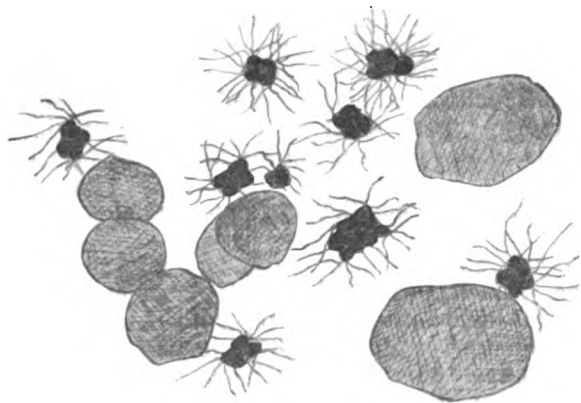


Fig. 2.

il y a une vaste poche remplie de pus jaunâtre, épais, filant. Muqueuse des cavités nasales hyperémique avec exsudat filant. Rate tuméfiée. Foie en dégénérescence granulo-graisseuse, avec des taches jaunâtres. Cavités pleurales remplies d'un exsudat séro-fibrineux. Surface de la plèvre hyperémique. À l'examen microscopique on trouve les sarcines dans le pus de la cuisse (fig. 2), dans l'exsudat

des cavités nasales, dans l'exsudat de la plèvre, dans le sang du cœur, dans les frottis du foie et de la rate. On les trouve aussi dans les coupes du foie et de la rate. Cultures positives de sarcines de l'exsudat des conjonctives, du nez, du pus, de l'exsudat de la plèvre, du sang du cœur, de la rate, du foie.

Au lapin No. 1 (déjà inoculé le 28 X. 07): Quelques gouttes sous la muqueuse de l'aile de la narine droite. Il n'a rien présenté.

Au cobaye No. 9: 1 c.c. sous la peau de la face interne de la cuisse droite. Quelques gouttes sous la muqueuse de l'aile de la narine droite. 12 XI. Tuméfaction de la cuisse inoculée. 28 XI. L'animal maigrit. Il est triste et il a de la peine à marcher. 2 XII. Mort la

nuit du 1^{er} au 2 XII. À l'autopsie: Infiltration hémorrhagique du tissu conjonctif au point inoculé où il y a un grand abcès rempli de pus jaunâtre, filant. Légère tuméfaction de la rate. Dégénérescence granulo-graisseuse du foie avec quelques plaques jaunâtres. Les sarcines sont très nombreuses dans le pus de l'abcès, plus rares dans le foie, rate, reins et sang du cœur. Les cultures de sarcines sont positives du pus et de tous ces organes.

À *Mus rattus* No. 10: 1 c.c. sous la peau de la face externe de la cuisse droite et quelques gouttes sous la muqueuse de l'aile de la narine droite. 15 XI. Tuméfaction de la dimension d'une pièce de 2 centimes à la cuisse au point inoculé. 3 XI. L'animal est triste. 25 XII. Mort le soir du 24 XII. À l'autopsie: Animal amaigri. Tuméfaction ronde, aplatie de la face externe de la cuisse inoculée. Elle contient du pus épais, jaunâtre avec d'innombrables sarcines. L'aile de la narine droite présente une tuméfaction de la dimension d'un petit grain de maïs et rempli d'un pus jaunâtre, filant, très riche en sarcines. Tuméfaction de la rate. Cultures positives de sarcines du pus des abcès de la cuisse et du nez, du sang du cœur et de la rate.

c) Inoculations avec cultures provenant de *Mus rattus* No. 5.

Exp. 1. Avec le raclage d'une culture sur agar, délayée dans du bouillon stérilisé, inoculé le 25 XI. 07.

À *Mus rattus* No. 11: 1 c.c. dans la cavité abdominale. 9 XII. Mort la nuit du 8 au 9 XII. À l'autopsie: Cavité abdominale remplie d'un exsudat louche, fibrineux, formant de véritables fausses membranes à la surface de la rate et du foie. Rate tuméfiée. Congestion du foie. Cavités pleurales remplies d'exsudat louche fibrineux qui couvre aussi le péricarde. Les sarcines sont très abondantes dans l'exsudat du péritoine et de la plèvre; plus rares dans foie, rate, et sang du cœur. On les trouve sur les coupes du foie et de la rate. Les cultures de l'exsudat du péritoine, de la plèvre, du cœur, de la rate et du foie sont positives.

d) Inoculations avec cultures provenant du cobaye No. 9.

Exp. 1. Avec une culture en bouillon inoculé le 5 XII. 07.

Au lapin No. 1 (déjà inoculé le 28 X. et le 9 XI.): 1 c.c. sous la peau de la face interne de la cuisse gauche, quelques gouttes sous la muqueuse du septum de la narine gauche, et instillation de 2 gouttes dans le sac conjonctival de l'œil droit. Cet animal n'a rien présenté.

Au cobaye No. 12: 1 c.c. sous la peau de la face interne de la cuisse gauche, quelques gouttes sous la muqueuse du septum de la narine gauche, instillation de deux gouttes dans le sac conjonctival de l'œil droit. 16 XII. Conjonctivite de l'œil droit avec légère sécrétion blanchâtre filante. 20 XII. Forte conjonctivite de l'œil droit avec rétrécissement de la fente palpébrale. Forte tuméfaction de la cuisse inoculée. L'animal a de la peine à se trainer. 21 XII. Mort la nuit du 20 au 21. XII. À l'autopsie: Forte infiltration hémorrhagique du conjonctif de la face interne de la cuisse inoculée. Cette infiltration remonte jusqu'au niveau du sternum. Une série d'abcès à pus épais, filant, jaunâtre, chargé de sarcines, se trouve entre les muscles de la face interne de la cuisse. Oeil dr. et œil g. à sécrétion blanchâtre, filante. Dans la narine droite, sous la muqueuse du septum, abcès de la dimension d'un petit pois rempli de pus jaunâtre.

La muqueuse de la narine droite est hyperémique. Dans la narine gauche il y a de l'exsudat blanchâtre visqueux. Dans la paroi externe

de cette narine il y a un gros abcès qui part de l'angle de l'œil et arrive jusqu'à l'aile du nez. Tuméfaction de la rate. Dégénérescence granulo-graisseuse du foie et des reins. Dans le foie il y a un petit abcès comme grain de chanvre. Le poumon droit est criblé dans sa partie antérieure de petits abcès de la dimension d'un grain de millet. Les sarcines se trouvent en grandes quantités dans le pus de la cuisse, des narines, dans la sécrétion nasale, conjonctivale, dans les abcès du poumon droit et du foie. Plus rares dans le foie, rate, reins et sang du cœur. Les sarcines sont nombreuses dans les coupes du foie et du poumon droit, plus rares dans celles de la rate et des reins. Les cultures de sarcines du pus et de ces différents organes sont positives.

À *Mus rattus* No. 13: 1 c.c. sous la peau de la face interne de la cuisse gauche, quelques gouttes dans le sac conjonctival de l'œil droit. 4 I. 08. Mort la nuit du 3 au 4 I. À l'autopsie on ne trouve qu'une petite collection purulente à sarcines à la cuisse au point inoculé. Cultures positives de sarcines, de ce pus et du sang du cœur.

e) Inoculations avec cultures provenant du cobaye No. 2 après sa mort. (21 XII. 07.)

Exp. I. Avec une culture en bouillon inoculé le 26 XII. 07.

Au lapin No. 14: 1 c.c. sous la peau de la face interne de la cuisse gauche et instillation de quelques gouttes dans le sac conjonctival de l'œil gauche. Cet animal n'a rien présenté.

Au cobaye No. 15: 1 c.c. sous la peau de la face interne de la cuisse gauche et instillation de quelques gouttes dans le sac conjonctival de l'œil gauche. 4 I. 08. Forte tuméfaction de la cuisse inoculée. 7 I. 08. Dans la tuméfaction se forme une petite ouverture. 23 I. Mort la nuit du 22 au 23 I. À l'autopsie: Enorme abcès qui pénètre entre les muscles de la cuisse, à pus jaunâtre, filant. Infiltration hémorragique du tissu conjonctif de la cuisse et qui remonte jusqu'à moitié de l'abdomen. Tuméfaction de la rate. Congestion du foie qui présente des taches jaunâtres. Les sarcines sont innombrables dans l'abcès, nombreuses dans les frottis du foie et de la rate, rares dans le sang et dans l'œil inoculé. Elles se trouvent dans les coupes du foie et de la rate. Les cultures de sarcines sont positives du pus, conjonctive de l'œil gauche, foie, rate, cœur.

À *Mus rattus* No. 16: 1 c.c. sous la peau de la face interne de la cuisse gauche et instillation de quelques gouttes dans le sac conjonctival de l'œil gauche. 5 I. Forte tuméfaction de la cuisse inoculée. 7 I. La tuméfaction s'ouvre aujourd'hui. 20 I. L'animal a fortement maigri, il est triste. 22 I. Mort la nuit du 21 au 22 I. À l'autopsie: Tuméfaction de la rate et congestion du foie. Dans l'œil gauche il y a quelques rares sarcines. Cultures de sarcines positives du foie, de la rate et du sang du cœur.

Les expériences que je viens d'exposer, démontrent que la sarcine en question est pathogène pour les rats et les cobayes, et surtout pour ces derniers, tandis qu'elle n'est pas pathogène pour le lapin, inoculé sous la peau ou sous la muqueuse du nez.

Les lésions qu'elle détermine le plus souvent, sont des abcès aux points inoculés, des lésions de péritonite quand l'inoculation est faite dans l'abdomen, la tuméfaction de la rate, la congestion du foie avec dégénérescence granulo-graisseuse de cet organe. Dans certains cas, à côté de ces lésions, on peut constater des formes de pleurésie purulente, de conjonctivite, de méningite, des abcès pulmonaires.

La sarcine se trouve non seulement dans les points où l'inoculation a été pratiquée, mais dans le sang et les différents organes.

Elle détermine par conséquent une véritable infection généralisée. J'ai complété ces recherches expérimentales, par des observations sur la résistance de cette sarcine dans le pus et sur la possibilité de son transport par l'intermédiaire des mouches.

Au point de vue de la résistance dans le pus voici ce que j'ai pu constater.

Le 6 II. 08, j'ai ensemencé en bouillon peptonisé:

a) Pus du cobaye No. 9 desséché sur un couvre-objet depuis le 2 XII. 07.

b) Mucosités de la gorge du malade, desséchées sur un tampon de ouate depuis le 8 XI. 07.

c) Mucosités du nez du malade dans une chambre humide (éprouvette paraffinée) depuis le 24 X. 07. L'examen microscopique direct permettait de constater la présence des sarcines avec leurs caractères typiques.

d) Pus du cobaye No. 9 séché dans une éprouvette depuis le 2 XII. 07.

Ces différents échantillons de pus avaient été gardés à une température de 18—20°. Toutes ces cultures, examinées le 10 II. 08 ont montré des sarcines avec les caractères typiques, toujours pourvues de longs prolongements.

Avec 1 c. c. de la culture provenant du pus *a* j'ai inoculé dans la cavité abdominale *Mus rattus* No. 17 le 10 II. 08. Le 29 II. l'animal est triste, il a de la peine à se déplacer. Il meurt le soir du 1. III. À l'autopsie: Cavité abdominale remplie par un exsudat louche, avec des flocons fibrineux. De véritables fausses membranes très épaisses couvrent le foie et la rate. Hyperémie et ecchymoses du péritoine. Très forte tuméfaction de la rate qui est criblée d'abcès jaunâtres de la dimension d'une tête d'épingle. Foie congestionné avec 3 abcès comme grain de millet, l'un dans le lobe gauche et 2 sur le bord postérieur. Dans la corticale du rein droit il y a quatre petits abcès.

D'innombrables sarcines se trouvent dans l'exsudat du péritoine, dans le foie, dans la rate, dans les reins, plus rares dans le sang du cœur. Tandis que dans la partie la plus liquide de l'exsudat les paquets de sarcine ne montrent que de rares prolongements à peine visibles, ceux-ci sont très manifestes dans les fausses membranes et dans les abcès des organes. Dans l'exsudat péritonéal il y a de nombreuses sarcines phagocytées, dont plusieurs se colorent fort mal et d'autres déjà réduites en granulations.

Les cultures de l'exsudat péritonéal, de la rate, du foie et du cœur, présentent les caractères ordinaires, et au microscope montrent des paquets de sarcines à prolongements très nombreux et très longs qui s'entrecroisent en treilli.

Cette expérience démontre donc que la sarcine, desséchée sur un couvre-objet pendant 2 mois, a gardé son pouvoir pathogène et les caractères morphologiques.

Pour vérifier la possibilité d'une dissémination de cette sarcine par l'intermédiaire des mouches, j'ai pratiqué l'expérience suivante: Dans un flacon à large ouverture fermée avec un tampon de coton, j'ai placé sur le fond, le 29 XI. 07, un peu de pus chargé de sarcines provenant du cobaye No. 2, et j'y ai ajouté 2 *Musca domestica* et 2 *Calliphora erythrocephala*. Le 9 XII., j'ai sorti les 4 mouches et dans l'eau de lavage de chacune d'elles, comme dans leur intestin, j'ai constaté la présence des sarcines typiques, soit à l'examen direct, soit par les cultures sur plaques d'agar, sarcines nettement distinctes au milieu de nombreuses bactéries. Il est donc possible que les mouches se portant sur les lésions

d'individus infectés par cette sarcine, puissent servir à son transport à distance, soit avec leurs corps, soit avec leurs matières excrémentitielles.

La sarcine pathogène que je viens de décrire, se rapproche par sa virulence de *S. tetragena*, mais elle en diffère par les caractères de ses cultures et surtout par son aspect morphologique si caractéristique, soit dans les cultures, soit dans l'organisme. En effet, les cultures de *S. tetragena* sont plus blanches, et ne s'étirent pas en filaments visqueux comme celles de la sarcine que je viens de décrire; la première ne présente qu'exceptionnellement la forme en sarcine, et jamais on n'y observe de prolongements formant un véritable réticule.

La sarcine en question se rapproche de celle décrite par Loewenberg, surtout au point de vue morphologique et au point de vue des cultures et pour mon compte, je n'hésite pas à la réunir avec celle-ci sous le nom de *Sarcina Loewenbergi* Macé. Cette sarcine a-t-elle joué un rôle pathogène dans le cas de pemphigus des muqueuses d'où je l'ai isolée? Je n'hésite pas à l'admettre: 1° Parce que cette sarcine était en quantité très grande et à l'état pur dans les mucosités du nez et dans l'épithélium de la muqueuse. 2° Parce qu'elle s'est montrée très virulente pour quelques animaux d'expériences.

Il existe donc une sarcine pathogène pour l'homme et pour les animaux, *Sarcina Loewenbergi*, caractérisée surtout par son aspect en gros paquets présentant d'innombrables prolongements, sarcine qui a été isolée jusqu'à maintenant dans 2 cas d'ozène (Loewenberg et Schläfrig) et dans un cas de pemphigus du nez et de la bouche (Galli-Valerio). Si *S. tetragena* forme le trait d'union entre les microcoques et les sarcines, *S. Loewenbergi* occupe la place immédiatement suivante se rattachant aux microcoques par sa virulence, beaucoup plus aux sarcines que *S. tetragena* par son aspect morphologique.

Mars 1908.

Nachdruck verboten

Bacillus suispestifer.

Spezifitätsfrage. Mikrobiologische Versuche.

Von Prof. Dr. Robert Hottinger, Escola Polytechnica S. Paulo.

Mit 5 Kurven.

(Schluß.)

Aus den Filtrationsversuchen von Lourens (l. c. p. 633 ff.) geht hervor, daß zu Beginn der Filtration das Filtrat keimfrei war. Es wurden so bis 240 g Filtrat erhalten, wonach dann im Filtrate Bacillen nachweisbar waren. Der Versuch hätte abgebrochen werden können schon lange, ehe die Bacillen im Filtrate nachweisbar wurden, denn so große Mengen Filtrat sind bei den Uebertragungsversuchen der spontanen Schweinepest gewiß nicht notwendig; dies um so weniger, als das infizierte Tier ebenfalls wieder wirksames Serum liefert. Aus den Angaben von Lourens kann insofern Nutzen gezogen werden, als aus ihnen erhellt, daß nach Filtration von etwa 50 g die Filtration unterbrochen werden muß, soll der Versuch einwandfrei sein.

Charakteristik des Schweinepestbacillus.

Die zu erörternde Frage betrifft die Sicherheit der Bestimmung und der Diagnose des *Bacillus suispestifer*. Diese Frage hat namentlich

dann hohen Wert, wenn der Keim aus Wasser, Defäkationen etc. isoliert werden soll. Die Diagnose wird in diesem Falle nicht durch ein klinisches Bild gestützt, wie dies der Fall ist bei der Isolierung des *Bacillus* aus kranken Tieren oder Kadavern, die das Bild der Schweinepest zeigen. Die Herkunft des *Bacillus* soll die Diagnose nicht beeinflussen, die Definierung der Art hat unabhängig vom Habitat des *Bacillus* zu sein. Es ist also auch nicht zulässig, wenigstens nicht zwingend, die Diagnose *Bacillus suipestifer* zu stellen, nur weil der betreffende paracoliähnliche Keim aus einem Pestkranken isoliert worden ist. Die Diagnose hat sich auf objektive, feststehende Daten zu stützen, die Berücksichtigung der Herkunft aber involviert eine schon nicht geringe subjektive Fehlergrenze.

Die Frage liegt sehr nahe, ob es denn überhaupt einen Typus des Pestbacillus gibt. Dieser Einwand wurde schon oben gestreift, indem der Erscheinung Erwähnung getan wurde, daß der *Bacillus* in einzelnen Fällen ein verschiedenes pathologisches Bild an der Infektionsstelle hervorrufen kann. Dieser Einwand darf aber nicht als absolut beweisend gelten bei der Annahme, daß diese Bacillen von dem Typus abweichen, denn bei dieser Erscheinung spielt eben nicht mehr der *Bacillus* allein die Rolle, sondern man hat mit der Individualität des infizierten Tieres zu rechnen, und da ist es sehr wahrscheinlich, daß sich Differenzen ergeben können, die man nicht ohne weiteres dem *Bacillus* zuschieben kann. Es ist möglich, daß Art und Weise der Injektion und namentlich die Beschaffenheit des Nährbodens einen Einfluß ausüben kann bei der Erscheinung von örtlichen Veränderungen.

Wo aber gewisse Veränderungen nicht immer mit Konstanz auftreten, da sollten sie nur mit Vorsicht als Diagnostikum angewendet werden.

Eine diesbezügliche Beobachtung machte ich bei den Versuchen mit einem neuen Coliseptikum, dem kolloidalen Quecksilberbiodid, das namentlich zu endovenösen und subkutanen Einspritzungen verwendet werden soll. In weitaus den meisten Fällen konnte eine örtliche Veränderung nicht wahrgenommen werden. In einzelnen Fällen aber trat an der Infektionsstelle ein leichtes Oedem auf. Diese Erscheinung kann in diesem Falle gewiß nicht ausschließlich dem Mittel zugeschrieben werden, die Art der durch die Nadel bedingten subkutanen Läsionen spielt dabei sicher eine Rolle. Die gleiche Tatsache kann gelegentlich auch bei Tuberkulininjektionen wahrgenommen werden, ohne daß man diese Erscheinung dem Mittel zuschreiben könnte. Anders liegt die Sache bei der Bildung von Abscessen, denn keine rein mechanische, kurze Zeit dauernde Einwirkung ist im stande, einen ausgebildeten Absceß hervorzurufen. Die chemotaktische Wirkung des pyogenen Reizes muß persistieren. Dies ist natürlich bei subkutaner Einverleibung pyogener Stoffe in hervorragendem Maße der Fall.

Wenn der *Bacillus suipestifer* das eine Mal an der Infektionsstelle einen Absceß hervorruft, das andere Mal aber nicht, so kann diese Tatsache nur dadurch erklärt werden, daß die Kulturen von verschiedener Herkunft nicht immer übereinstimmen in ihren physiologischen Leistungen. (Eine eventuelle Verunreinigung kommt als technischer Fehler nicht in Betracht.) Es scheint mir sehr unwahrscheinlich, daß eine bestimmte Kultur das eine Mal pyogen wirke, das andere Mal aber nicht, ein solcher Fall ist mir bisher nicht vorgekommen, daß dies aber dennoch theoretisch der Fall sein könnte, soll weiter unten erörtert werden.

Da in der Literatur Fälle zur Genüge verzeichnet sind, wo der *Bacillus suipestifer* pyogen wirkte, so kann die Veränderung an der

Injektionsstelle oder deren Ausbleiben nicht als konstantes Merkmal oder differentialdiagnostisches Moment betrachtet werden.

Die Pathogenität sollte als konstante Eigenschaft des *Bacillus* angesehen werden können. Aus der Literatur erhellt, daß er für fast alle Haustiere pathogen wirken kann. Ueber den Grad der Virulenz hingegen bestehen Differenzen, und zwar nicht nur von Kultur zu Kultur, sondern die gleichen Differenzen bestehen auch von Individuum zu Individuum.

Dieses atypische Verhalten des *Bacillus suispestifer* wird neuerdings von Uhlenhuth (Berl. T. Wochenschr. 1907. p. 785) entgegen der Ansicht von Lourens bestätigt. Es wäre also gegebenenfalls nicht angezeigt, bei nicht durchgreifender Pathogenität die Diagnose *Bacillus suispestifer* auszuschließen, jedenfalls kann dieses Merkmal nicht als sicher angesehen werden.

Unter den kulturellen und biologischen Merkmalen findet man verschiedene Unsicherheiten.

Dies trifft in erster Linie in Bezug auf die Indolbildung zu. *Bacillus suispestifer* sollte kein Indolbildner sein, dennoch sind Fälle zur Genüge bekannt, wo eine geringe Indolbildung in den Kulturen gefunden wurde. Die Vorschrift, nur Pepton Witte zu verwenden, weil sich in diesem Falle diese Eigenschaft weniger zeigt, ist nicht ganz durchgreifend und die Versuche nicht ausreichend. Die Peptone des Handels sind Gemische von Albumosen und Peptonen neben einigen anderen Substanzen in wechselndem Verhältnis, die Fabrikation des Peptons kann für die quantitative Zusammensetzung keine Gewähr leisten, so daß eine Konstanz der Indolbildung nicht absolut von diesem Nährmittel abhängig gemacht werden kann. Es dürfte sich in dieser Hinsicht empfehlen, die reineren Produkte, wie sie durch Aussalzen der Albumosen oder durch die Fällungen der Peptone mit Eisen erhalten werden können, in Betracht zu ziehen. Nur in diesem Falle könnte eine genauere Definierung erwartet werden. Wenn auch gewöhnlich wenig oder kein Indol gebildet wird, ist doch diese Eigenschaft schwankend, nicht absolut.

Das gleiche gilt von der Laktosevergärung. Die Annahme, daß *Bacillus suispestifer* Milchzucker nicht vergäre, ist nicht durchgreifend. Die Gasbildung wird oft als sehr klein angegeben, gemessen im Gärröhrchen. Dabei ist jedoch das Absorptionsvermögen des Nährbodens namentlich für CO_2 einzurechnen, dadurch können erhebliche Mengen maskiert werden, erheblich im Verhältnis zu der kleinen Gasblase in der Kuppe des Gläschens, denn erst bei Uebersättigung der Lösung wird das Gas angesammelt.

Das Vermissten der Glukosevergärung ist keine sehr große Seltenheit; bei einer Kultur von Král fand ich sie nicht, einen Typus gibt es auch hier nicht. „Voges und Proskauer nennen in ihrer neuesten Publikation eine Form Schweinepest, die alle Zuckerarten vergärt“ . . . (Lehmann und Neumann).

Die Kalitrotreaktion Voges-Proskauers hat sich nicht als spezifisch herausgestellt für alle *Suispestifer*-Stämme.

Die Agglutinationsprüfung versagt bei der Diagnose *Bacillus suispestifer*, indem auch andere, namentlich die weiter unten erwähnten Bacillen fast gleiche Werte zeigen.

Das Verhalten in Milch ist widersprechend beschrieben, die anfänglich leichte Säuerung kann persistieren oder in mehr oder weniger alkalische Reaktion umschlagen.

Neben der sonst konstant zu beobachtenden Beweglichkeit des

Bacillus wurde eine unbewegliche Rasse beschrieben. Ebenso konnten Lehmann und Neumann bei *Bacillus Sanarelli* keine Eigenbewegung beobachten, ein Symptom, das als typisch angesehen wurde; ebenso bemerkenswert ist die Angabe p. 194 Anmerkung zu *Bacillus septicaemiae haemorrhagicae*.

Endlich sei erwähnt, daß das Wachstum auf den üblichen Nährböden nichts Typisches für den *Bacillus suispestifer* zeigt, zum Teil gehen die Angaben sehr auseinander, besonders bei der Kultur auf der Kartoffel.

Konstant unter allen Umständen ist die Nichtgerinnung der Milch (und Gramsche Färbung). Von dieser Eigenschaft wird bei der Untersuchung auch in erster Linie ausgegangen. Wird Milch zur Gerinnung gebracht, so liegt keine Berechtigung vor, die Diagnose *Bacillus suispestifer* zu stellen. Diese Grenze ist jedoch insofern konventionell, als das Auftreten der Gerinnung als leicht wahrnehmbares Merkmal leicht zu konstatieren ist. Die Angaben betreffs der Laktosevergärung, der Reaktion der Lackmusmolke weisen darauf hin, daß auch hier Uebergänge bestehen, denn in einem Falle finden wir bleibende Säuerung, in anderen, und wohl der Mehrzahl, erst leichte Säuerung und Uebergang zur alkalischen Reaktion. Dieser Punkt soll unten experimentell behandelt werden.

Stellung des *Bacillus suispestifer* im System.

Lehmann und Neumann stellen in ihrem Schlüssel der Arten des Genus *Bakterium* (p. 183) die Bakterien *Typhi*, *Cholerae suum*, *icteroides* und *coli* in eine Gruppe, neben diesen 4 Arten könnten im Schlüssel noch eine Reihe Arten oder Varietäten untergebracht werden, die alle zwischen *Typhi* und *Coli* plaziert werden müßten. Die verwandtschaftlichen Beziehungen dieser Arten sind schon öfter Gegenstand von Besprechungen gewesen, namentlich auch in Bezug auf die Unität der verschiedenen Varietäten. Die längst bekannte Variabilität, namentlich des *Coli*, hat zu dieser Theorie Anlaß gegeben; bekanntlich hat die Lyoner Schule einen direkten Uebergang des *Coli* in *Typhi* nachweisen wollen. Die Arbeit von Rodet soll unten näher besprochen werden.

Zwischen dem *Bacillus typhi* und *coli* finden sich zahlreiche Arten oder Unterarten, und zwar sind auch da Arten aufgestellt worden, wo eine außerordentliche Uebereinstimmung mit schon bekannten Arten bestand, meist einfach darauf fußend, daß dieselben aus einem anderen Tiere gezüchtet wurden. Es interessiert hier, festzustellen, daß morphologisch und biologisch verschiedene Bakterien mit dem *Bacillus suispestifer* die weitgehendste Aehnlichkeit haben oder mit ihm genau übereinstimmen. Dieselben sind:

- Bacillus paratyphi* B,
- Bacillus typhi murium*,
- Psittakosebacillus*,
- Bacillus icteroides*,
- Bacillus diphtheriae columbarum* (Lehmann u. Neumann, p. 239 ff.),
- Bacillus moribificans bovis*,
- Bacillus* der Fleischvergiftung Aertryck u. a.

Würden von diesen 8 Bacillen je 1 ccm Kultur in ein gemeinsames steriles Reagenzglas gebracht, so dürfte die Isolierung derselben unüberwindliche Schwierigkeiten machen, insofern nicht der eine oder der andere vom Typus abweicht, der *Bacillus suispestifer* z. B. als leichter

Indolbildner vorher bekannt wäre. Und diese Stichprobe sollte man doch verlangen können, solange es sich noch um verschiedene Arten handeln soll. Selbst bei Varietäten müßte eine Isolierung möglich sein mit den Hilfsmitteln, die uns heute zu Gebote stehen. Die Schwierigkeit eines solchen Experimentes sollte nicht einmal größer sein, als die Isolierung des Typhusbacillus aus Defäkationen, wenn es sich nämlich um einigermaßen verschiedene Arten oder Varietäten handelt.

Nur in einer Beziehung könnten vielleicht bestimmtere Aufschlüsse erhalten werden, nämlich in Bezug auf die Pathogenität. Das gilt in erster Linie, aber auch nicht durchgreifend, von *Bacillus typhi murium*, der für Haus- und Feldmäuse eine spezifische Pathogenität zu haben scheint. Es ist aber zu bedenken, daß an diesem Artmerkmal die Maus mindestens zur Hälfte Anteil hat, so daß man vielleicht ebensogut die Maus selbst zoologisch mit dieser Kultur bestimmen könnte.

Prüfen wir in dieser Hinsicht den Schweinepestbacillus, so ist ein ähnliches Verhalten sicher nicht zu finden, nirgends findet man den Fall einer spezifischen Pathogenität für das Schwein. Derselbe verhält sich auch in dieser Hinsicht wie die Bacillen gewisser Fleischvergiftungen, namentlich wie *Bacillus paratyphi*. Auch dieser ist für die verschiedensten Tiere, namentlich kleinere Versuchstiere, sehr virulent.

Die spezifische Pathogenität des Schweinepestbacillus für das Schwein besteht nicht. In dieser Hinsicht steht er hinter einigen der 8 oben genannten Bacillen weit zurück. Der Versuch, die Diagnose Schweinepestbacillus zu stellen in einem Gemische von Paratyphusbacillen, icteriodes u. a., auf die Pathogenität fußend, dürfte unmöglich sein. Das einzige Merkmal, das nicht im Stich läßt, ist vorhanden, wenn der Bacillus nachweisbar aus einem schweinepestkranken Schweine isoliert worden ist. Wird er durch Versehen im Laboratorium, Irrtum in der Aufschrift etc., mit obigen Kulturen verwechselt, dann ist es um seinen Namen geschehen. Dies gilt namentlich dann, wenn die Kulturen schon einige Generationen im Laboratorium gezüchtet worden sind. Eine andere Gruppe von Bakterien gehört in dieser Beziehung aller Wahrscheinlichkeit nach ebenfalls zu diesen Bacillen, die Pasteurellösen der Franzosen. Die einzelnen Pasteurellas scheinen zwar wesentlich von unseren Bakterien abzuweichen, aber diese Abweichungen sind meist nicht so, daß sie eine Abtrennung verlangen. Es muß zugegeben werden, daß einige derselben sich kulturell von den obigen unterscheiden, aber Unterschiede derselben Größenordnung dürften auch unter den verschiedenen Kulturen desselben Bacillus vorkommen. Die eigentlichen Pasteurellas sollten ihren Merkmalen nach, wie sie von Lignières aufgestellt sind, nicht in die Hogcholeragruppe gehören, denn es sind unbewegliche Stäbchen, die Würtzsche Platten röten. Eine scharfe Trennung ist aber kaum durchzuführen.

Bei einer Seuche unter jungen Laboratoriumshunden (Staupe) isolierte ich diese Pasteurellas, und zwar in der gleichen Seuche aus zwei Hündchen zwei sich gut unterscheidende Bacillen. Einer näherte sich mehr dem *Bacillus suispestifer*, der andere mehr dem *Bacillus coli*; beide waren bewegliche Stäbchen. In dem einen Kadaver überwogen die coliähnlichen über die anderen Bacillen, die auf Lackmuslaktoseagar blau wuchsen. Aus etwa 100 Kolonien aus dem gleichen Herzblute in Rein-kultur konnten die verschiedensten Typen konstatiert werden. Der Traubenzucker wurde vergoren, aber Neutralrot verschieden intensiv bis fast unmerklich fluoresziert; Milch ungeronnen, in Uebergang zur langsamen Gerinnung bei anderen Bacillen, und zwar trat bei letzteren einmal fast unmerkliche Neutralrotreaktion auf.

Eine systematische Berechtigung haben die Arten der Hogcholera-gruppe auf keinen Fall. Es scheint sogar fraglich, ob es angezeigt ist, dieselben in der obigen genauen Definition beizubehalten, da dadurch der Eindruck erweckt werden muß, daß es sich tatsächlich um verschiedene Arten handelt. Selbst über die Berechtigung, dieselben als Varietäten zu behandeln, könnten wenige Einwände gemacht werden, sicher keine vom systematischen Standpunkte, vielleicht eher vom klinischen.

Würden die Bacillen ein verschiedenes anatomisches oder histologisches Bild hervorrufen, oder wären Verschiedenheiten anderer Natur durchgreifend, so müßte eine Trennung absolut beibehalten werden. Bei *Bacillus suipestifer* und *Sanarelli* konnte ich keine Verschiedenheit finden, weder bei der Sektion, noch in den zu vielen tausenden untersuchten histologischen Leberpräparaten. Es dürfte aber verfrüht sein, irgend welche Namensänderung einführen zu wollen, bevor nicht sichere Angaben vorliegen über die phylogenetische Verwandtschaft mit anderen Bakterien. Der stammesgeschichtliche Zusammenhang wird die einzig einwandfreie systematische Einteilung sowohl in der Zoologie wie in der Botanik sein, und diese Art der Klassifikation wird noch manche Ueberraschung bringen, wie dies auch schon der Fall gewesen ist seit der Einführung der Präzipitinreaktion in die Zoologie und Botanik.

Betreffend die Stellung des *Bacillus suipestifer* in der Gruppe Typhi-Coli muß daran erinnert werden, daß er in eine Familie mit etwa 7 anderen Bacillen zusammengebracht werden muß, deren Glieder sich weder morphologisch noch biologisch auseinanderhalten lassen.

Eine spezifische Pathogenität finden wir mehr oder weniger ausgesprochen nur bei einigen Gliedern dieser Familie, sicher nicht aber bei *Bacillus suipestifer*. Die Virulenz ist in dieser Gruppe ausgeprägt eine ontogenetische Funktion.

Phylogenetische Variation.

Als Phylogenesis wird die Entwicklung einer Art aus ihren Vorfahren bezeichnet; dieselben haben sich, sei es infolge Variation oder vielleicht Mutation, in andere Arten umgewandelt. Für die Wirbeltiere ist der Zeitraum, welcher zu dieser Umwandlung nötig war, ein enormer. Wird das Auftreten der Menschen ins Tertiär verlegt, so dürften etwa 5 000 000 Jahre seit dem Zeitraume verstrichen sein, in dem sich diese Differenzierung ergab, ein Zeitraum, der für uns unfassbar ist. Wird die Generationsfolge für den Menschen zu rund 25 Jahren angenommen, so würden etwa 200 000 Generationsfolgen zwischen uns und unseren ersten Vorfahren liegen. Die Umrechnung des Zeitraumes auf Generationen bezeichnet die größere Wahrscheinlichkeit einer Variationsäußerung (in Form der Mutation) bei der Generationsfolge, wobei Fluktuationen in der ontogenetischen Entwicklung außer acht gelassen werden.

Wird für den schnell wachsenden Coli angenommen, daß er für eine eventuelle Veränderung seiner Eigenschaften ebenfalls etwa 200 000 Generationen brauche, so sind dieselben in etwa 4000 Tagen oder 12 Jahren erreicht. Eine Berechtigung solcher Umrechnung des Zeitraumes in Generationsfolgen in Hinsicht auf die Erklärung von Variationen kann aus paläontologischen Tatsachen abgeleitet werden, insofern als andere Wesen mit kürzerer Generationsfolge, wie z. B. das Pferd, im gleichen Zeitraume mehr Formen und Uebergänge aufweist als der Mensch.

Durch Aufstellung obiger Umrechnung stellte ich mich auf die Seite

der Fluktuationstheorie, die bekanntlich das Hauptmoment der Variationen auf Konto äußerer Einflüsse stellt; die Mutation wäre mit einer solchen Zeitrechnung nicht gut vereinbar.

Diese kurzen Auseinandersetzungen sollen nur einen orientierenden Einblick gestatten über die Stellung und Auffassung dieses Problems seitens des Verfassers. Genauere Auseinandersetzungen sollen a. a. O. folgen und namentlich durch Experimente gestützt, die Ansicht möglichst beweisen, daß jede Variation das Produkt ist aus **Zeit, äußeren Einflüssen und Generationsfolge**.

Äußere Einflüsse.

Die äußeren Einflüsse spielen bei der Variation eine Hauptrolle, denn nur sie sind meiner Ansicht nach im stande, die Grundursache jeder Variation zu bilden. Es soll namentlich später gezeigt werden, daß dabei keineswegs ein Widerspruch mit der Mutationstheorie entsteht, wenigstens nicht in dem Maße, wie man aus dieser fast kategorischen Voranstellung der äußeren Einflüsse annehmen könnte.

Bei keinem Lebewesen haben wir diese äußeren Einflüsse so leicht in der Hand, wie bei den Schizomyceten, sodaß dieselben, namentlich gewisse Gruppen derselben, sich in hervorragendem Maße für eine experimentelle Bearbeitung des Variationproblems eignen. Die äußeren Einflüsse beschränken sich hier auf Art und Zusammensetzung des Nährbodens und die Behandlungsart desselben während des Versuches, d. i. die Inkuubierung der Kultur als Ganzes (Temperatur, Licht etc.)

Ein weiterer Vorzug besteht in der Zugänglichkeit der Feststellung des physiologischen und morphologischen Zustandes der Versuchsarten durch exakte physikalische und chemische Methoden. In jedem beliebigen Augenblick kann durch Probeentnahme der jeweilige Zustand geprüft und ebenso leicht können die erhaltenen Resultate nachgeprüft werden. Namentlich ist die Generationsfolge sehr rasch, so daß in kürzester Zeit, von einem Individuum ausgehend, eine fast unendlich große Anzahl Individuen erhalten werden kann; dies bedeutet aber einen sehr großen Vorteil vor allem anderen Versuchsmaterial, abgesehen davon, daß Individuen sowohl einzeln oder in Verbänden morphologischer als auch verhältnismäßig leicht physiologischer Untersuchung zugänglich sind. Unter diesen Gesichtspunkten unternahm ich vor einigen Jahren Variationsversuche, speziell mit *Bacillus coli*.

Durch diese Versuche sollte die Möglichkeit bewiesen werden, daß der *Bacillus coli* unter bestimmten Umständen in seine nächsten verwandten Formen übergehen könne. Die gleiche Ansicht wurde seinerzeit von Rodet und Roux¹⁾ für den *Bacillus coli* in Bezug auf den *Bacillus typhi* verfochten. Es sei aber schon hier bemerkt, daß namentlich in der Versuchsanordnung und auch in der Wahl der Nährböden ein prinzipieller Unterschied besteht zwischen den Versuchen Rodet-Roux und den nachfolgenden. Rodet verwendet zu seinen Versuchen Nährböden und Temperaturen, die für den *Bacillus* entschieden schädlich wirkten. Hohe Temperaturen, alte Kulturen und Antiseptica (p. 83 a. a. O.) sind Bedingungen, die sich im Tierkörper nie finden lassen. Daß es sich in solchen Fällen nur um geschwächte Bacillen handeln konnte, liegt auf der Hand. Rodet scheint auch die Auffassung gehabt zu haben, der *Bacillus typhi* sei ein

1) De la variabilité etc. Paris 1894.

abgeschwächter *Bacillus coli* (p. 86); es dürfte mehr wie zweifelhaft sein, ob man mit einem solchen *Bacillus* unter der Annahme, der *Bacillus typhi* sei ein degenerierter *Coli*, je einen Fall von Typhus beim Menschen hervorrufen könnte.

Auf dieser Basis scheinen überhaupt alle Variationsversuche gemacht worden zu sein, wenigstens sind auf diese Art Variationen zu stande gekommen (vgl. Escherich und Pfaundler, p. 402. Kolle und Wassermann). Obwohl solchen Versuchen wissenschaftlicher Wert nicht abgesprochen werden darf, dürfen sie doch nicht verwendet werden, wenn es sich um die Frage handelt, ob unter natürlichen Verhältnissen ein *Bacillus* in seine nächste verwandte Form übergehen könne. Grundbedingung für solche Versuche ist namentlich, daß der in Arbeit genommene *Bacillus* auf den gewählten Nährboden sehr gut gedeiht, so daß dadurch Gewähr geleistet wird, daß für den *Bacillus* günstige Verhältnisse vorliegen.

Als Charakteristikum dafür kann wohl eine sehr rasche und namentlich reiche Entwicklung der Kulturen angesehen werden. Dieselbe soll sich dauernd erhalten und nicht etwa nach einiger Zeit eine Abflauung eintreten, die ein Zeichen beginnender Degeneration wäre. Um die Qualität des Nährbodens bei der *Coli*-Gruppe zu kontrollieren, können meist komplizierte Versuchsanordnungen umgangen werden. Da sich die Entwicklung der Kulturen in dieser Gruppe, speziell bei *Coli* mit der Erniedrigung um 10, um das 2—3-fache herabsetzt (innerhalb physiologischer Grenzen), also dem Temperatugesetze chemischer Reaktionen folgt, so genügt es, den Eintritt der Trübung bei Zimmertemperatur mit einem Vergleichsnährboden, etwa Peptonbouillon, zu vergleichen. Auf diese Weise werden einige Anhaltspunkte erhalten, die für die Qualitätsprüfung ausgenützt werden können. Der Nährboden hat derart zu sein, daß seine Komponenten bei eventuellen natürlichen Variationen dem *Bacillus* zur Verfügung stehen. Diese Bedingung dürfte ziemlich schwierig innezuhalten sein, denn über die Variationen im natürlichen Verhältnisse wissen wir sehr wenig, namentlich wenn die Virulenz außer acht gelassen wird und es sich nur um physiologische Eigenschaften handelt, d. h. um die Biologie des *Bacillus*. Wenn die Hilfhypothese gestattet ist, daß ein *Coli*, der längere Zeit unter bestimmten Verhältnissen in gewissen pathologisch veränderten Organen zu variieren vermag, so wären in erster Linie solche Verhältnisse nachzuahmen. Dies stößt aber auf Schwierigkeiten, denn die Nachahmung *in vitro* wird eben immer eine mangelhafte und namentlich eine ungenügende sein. Auch ist gewiß eine ganze Anzahl solcher Bedingungen nicht bekannt, so daß sie vernachlässigt werden.

Bei meinen diesbezüglichen Versuchen, die nur orientierenden Charakter hatten (vide Anuario da Escola Polytechnica, 1906), war es mir in erster Linie darum zu tun, Methoden auszuarbeiten, die eine genaue Kontrolle der Beeinflussung des *Bacillus* zulassen. Es wurde ausschließlich mit *Bacillus coli* gearbeitet.

Um den gerechten Einwand möglichst auszuschalten, daß sich die eventuell ergebenden Varianten als Verureinigungen aus Luft und durch die Technik bedingt, in die Kulturen eingeschlichen hätten, wurde in erster Linie die Sicherheit der Technik der Abimpfung geprüft. Die sich sehr oft nötig machende Abimpfung hätte sehr leicht beschuldigt werden können, daß sich ein coliähnlicher Pilz bei der jeweiligen Operation eingeschlichen hätte.

Zur Prüfung wurden 2 Gläser mit steriler Bouillon genommen und mit derselben abwechselungsweise so von einem Gläschen auf das andere abgeimpft, als ob es sich um Ueberimpfung einer Kultur handeln würde. Da aber beide steril waren, so durfte natürlich keine Kultur angehen, denn dies wäre die befürchtete Verunreinigung gewesen.

Dieser Prozeß der blinden Abimpfung wurde nun im ganzen mit den gleichen 2 Gläschen 218mal wiederholt, ohne daß sich eine Verunreinigung eingestellt hätte. Bei diesen Operationen wurde nicht mehr Sorgfalt verwendet wie üblich. Zwischenfälle, wie sie vorkommen können, Fallenlassen des Pfropfens etc., traten bei diesen, einige Wochen fortgesetzten Manipulationen ein. Durch das viele Öffnen wurde der Wappetropfen hinfällig und mußte ersetzt werden. Der Rand eines Gläschens zerbrach etc. Wenn trotzdem eine Verunreinigung nicht eingetreten ist, so kann dies sicher ein Beweis dafür sein, daß die Gefahr eines Eindringens von fremden Keimen außerordentlich klein ist.

Die Möglichkeit, einer Verunreinigung kann hingegen trotz dieser Versuche nicht bestritten werden. Da aber bei unseren Versuchen nur coliartige Keime hätten in Betracht kommen können, so war es nötig, die eventuell in Betracht kommenden Luftkeime während der Versuche zu kontrollieren. Zu diesem Zwecke wurde durch Monate hindurch während der Experimente beständig die Qualität der Luftkeime untersucht, und zwar immer am gleichen Tische, wo die Verimpfungen der Coli-Kulturen vorgenommen wurden, sowie meist zu gleicher Zeit.

Unter den 895 isolierten untersuchten Keimen fand sich kein einziger, der, in die Kulturgläser eingedrungen, zu unangenehmen Verwechslungen hätte Anlaß geben können. Es waren

Kokken	105
grampositive Bacillen	46
durch Kulturmerkmale von Coli differierende Keime	736
morphologisch verschieden von Coli	8

Aus dieser Zusammenstellung geht zugleich hervor, daß bei der Diagnose der gefundenen Luftkeime hauptsächlich das Verhalten im Nährboden herangezogen wurde, und nicht etwa nur auf morphologische Eigenschaften abgestellt wurde.

Durch diese beiden Experimente, Kontrolle der Technik und der Luftkeime, wurde auf verschiedenem Wege die äußerst geringe Wahrscheinlichkeit dargetan, daß eine Verunreinigung der Kulturen Ursache einer vorgetäuschten Variation war. Schließlich sei schon hier hervorgehoben, daß die Experimente durch Ausführung von 3 Parallelversuchen kontrolliert wurden, so daß auch auf diesem Wege die Fehlergrenze möglichst eingeschränkt wurde.

Die Untersuchung erstreckte sich in erster Linie auf die Fähigkeit, die Milch zur Gerinnung zu bringen, dieses Merkmal ist (wenn auch konventionell) das Wichtigste. Ein Bakterium, das die Milch nicht zum Gerinnen bringt, hat nicht mehr als Coli, wohl aber als ein Paracoli zu gelten.

Die Versuchsanordnung mußte so gewählt werden, daß der Bacillus möglichst oft auf seine Fähigkeit, die Milch zu gerinnen und zu säuern, untersucht wurde; es sollten so wenig Generationen wie möglich ungeprüft sich der Untersuchung entziehen. Dies wird auf zwei Wegen erreicht. In erster Linie sind die Kulturen sehr oft abzuimpfen, und dann sind aus einem größeren Quantum Parallelkulturen in Milch

so oft wie möglich, d. h. sobald sich voraussichtlich wieder Verschiedenheiten im Säuregrad gebildet haben, Proben zu entnehmen und die Titrationen vorzunehmen. Wurde also das Verhalten des Coli in Urin untersucht, so wurde derselbe kontinuierlich in Urin weitergezüchtet, so daß alle Tage oder 2 Tage eine neue Abimpfung vorgenommen wurde. Zu gleicher Zeit wurde auf etwa 100–200 ccm Milch abgeimpft, die nun zur Kontrolle des Bacillus dient, in Bezug auf seine Fähigkeit, Säure zu bilden. Die mit diesem Quantum Milch vorgenommenen Titrationen wurden (durch Abwägen von etwa 10 g) mit $n/_{10}$ NaOH ausgeführt und das Resultat auf genau 10 g umgerechnet. Die Pipette ist zur Abmessung der Milchmenge (etwa 10 ccm) zu vermeiden, denn dadurch würde schon bei der ersten Entnahme die Gefahr einer Verunreinigung der Milch zu befürchten sein, namentlich aber würde die Genauigkeit sehr leiden, denn die Viskosität der Milch ändert sich im Verlaufe der Kultur zusehends, so daß sich leicht ein Fehler in der Titration bis zu 5 Proz. einstellen kann. Die Kultur entstammt der gleichen Oese, wie die fortgezüchtete auf Urin. Die Prüfung auf Säure geschieht am besten, wenn die Milch bei etwa 22° gehalten wird, die Gerinnung wird dadurch auf etwa 3 Tage hinausgeschoben, so daß man bequem etwa 6–8 Bestimmungen machen kann, bis die Gerinnung eintritt. Die so erhaltenen Daten werden in Kurven aufgetragen und geben in dieser Anordnung ein sehr gutes, klares Bild und Vergleichsmaterial.

Die Schnelligkeit der Gerinnung ist aber nicht nur von der Natur des Bacillus abhängig, dieselbe könnte beeinflusst sein durch die initiale Menge von Keimen, die auf die Milchkölbchen übertragen wurden. Um diesen Einfluß zu prüfen, wurden 4 Kölbchen Milch mit 2, 6, 19 und 41 Tropfen einer verdünnten Bouillonkultur geimpft und auf obige Art die Säuerung verfolgt. Es zeigte sich, daß dadurch der Charakter der Kurve nicht geändert wurde, die Kurven waren zwar in ihrem Verlaufe nicht absolut übereinstimmend, aber auch die Qualität der Milch war, wie sich herausstellte, nicht dieselbe, der initiale Säuregrad war verschieden, und zwar etwa 0,5 ccm $n/_{10}$ Lauge zwischen Probe 1 und 3. Fernerhin wurde auf diesen Punkt Rücksicht genommen, namentlich in Bezug auf den Einfluß der Temperatur (vgl. Fig. 1).

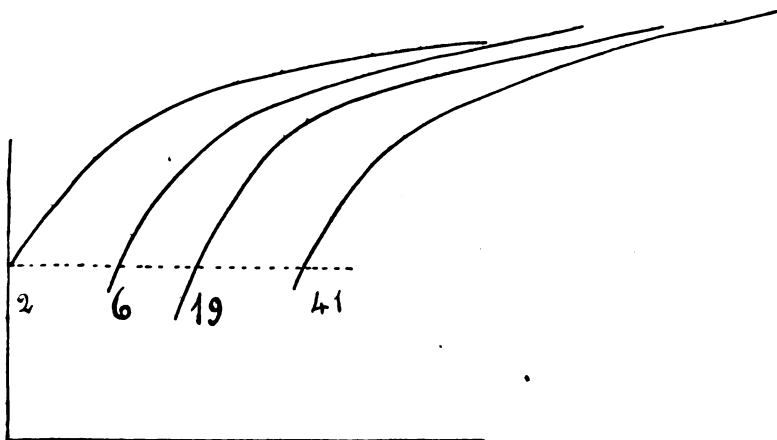


Fig. 1. Einfluß der initialen Menge Keime (in Tropfen) auf die Milchsäuerungskurve.

Einen bedeutenden Einfluß hat natürlich die Temperatur auf die Schnelligkeit und Art der Gerinnung. 2 Milchkulturen wurden bei 22° und bei 37° gehalten und zur Konstruktion einer Kurve titriert. Die Kurve des Bacillus, der bei 37° gezüchtet wurde, weicht konkav von der geraden ab, die anderen ziemlich stark konvex, erstere ist viel steiler als letztere, so daß die Gerinnung für 10° Temperaturdifferenz etwa um das 2,5-fache beeinflußt wird. Da auch der Charakter der Kurve geändert ist, so müssen sämtliche Kulturen bei der gleichen Temperatur gehalten werden, da eine Korrektur des verschiedenen Kurven-

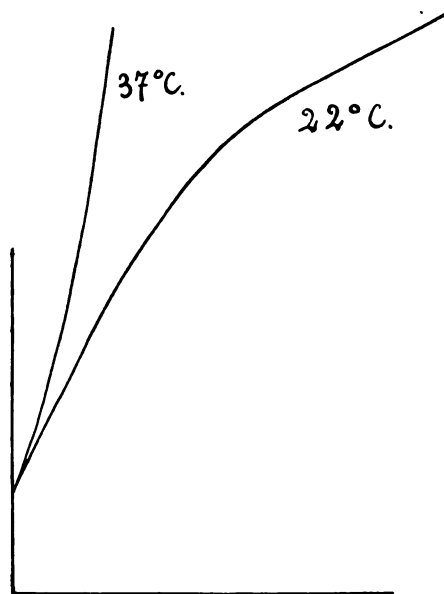


Fig. 2. Einfluß der Temperatur auf die Kurven.

verlaufes, durch veränderte Kultur bedingt, viel schwieriger wäre. Die Kölbchen wurden in ein Wasserbad gebracht, das beständig von der Wasserleitung durchflossen wurde, so daß die Temperatur ziemlich konstant blieb. Immerhin wurden die Kurven jeweils mit einem Kontrollkölbchen verglichen, so daß ein sich eventuell ergebender Temperaturunterschied bei der Vergleichung kompensiert worden wäre (vgl. Fig. 2).

Auf diese Art wurden verschiedene Nährlösungen geprüft. Von einer reinen Kolonie ausgehend, kontinuierlich in Urin, Heudekokt, Bouillon und einer Nährlösung gezüchtet, die durch leichte Eiweißhydrolyse erhalten war, zeigten sich sehr ausgeprägte Differenzen in den Kurven. Auffallend sind die Differenzen zwischen der Bouillonkultur und der Urin- und Heudekoktkultur. Erstere steigt rasch in konvexem Verlauf an und

geht unausgesetzt der Gerinnung entgegen. Soweit meine Erfahrung reicht, ist dies der Typus der Bouillonkultur; wir werden ihm weiter unten wieder begegnen, diese Kurve diene als Kontrolle, von der ersten Kolonie ausgehend, wurde immer in Bouillon gezüchtet, sie blieb konstant (vgl. Fig. 3).

Die Kurven der Heudekokt- und Urinkultur sind sehr abgewichen von den keimgleichen Bouillonkurven. Beide verlaufen anfangs auffallend gleichartig, erst schwach ansteigend, dann im konkaven Knick rasch auf eine gewisse Höhe gelangend, kehren sie in konvexem Knicke wieder mehr in die ursprüngliche Richtung zurück, mit dieser annähernd parallel verlaufend.

Wie bemerkt, gehen diese Kurven aus dem gleichen Keime hervor, also darf die Variation in der Kurve wohl den verschiedenen Nährböden zugeschrieben werden, da sonst alle anderen Bedingungen, soweit sie überblickt werden können, gleichgehalten wurden. Ich fragte mich daher, wie sich wohl die Kurven gestalten würden, wenn die Konstruktion derselben unmittelbar nach der Isolierung aus dem Darms begonnen würde. War obige Voraussetzung richtig, so mußte sich eine

Differenz ergeben zwischen dem frisch aus den Faeces isolierten Coli und dem nachträglich in Bouillon weitergezüchteten. Dieser gewiß wichtige Kontrollversuch wurde auf folgende Art angestellt:

Da bei der Isolierung der Keime aus dem Darne (des normalen Schweines) neben Coli eine Reihe anderer Keime auf der Platte angingen, wurde eine größere Anzahl Kolonien von den Platten auf Bouillon und Milchkölbchen verimpft, sobald sie eben sichtbar wurden. Sämtliche Kölbchen wurden wie oben untersucht zur Konstruktion von Kurven; die gleichzeitig angelegten Bouillonkulturen dienten nachträglich zur Bestimmung der verwendeten Bacillen, so daß nur mit den Kulturen der

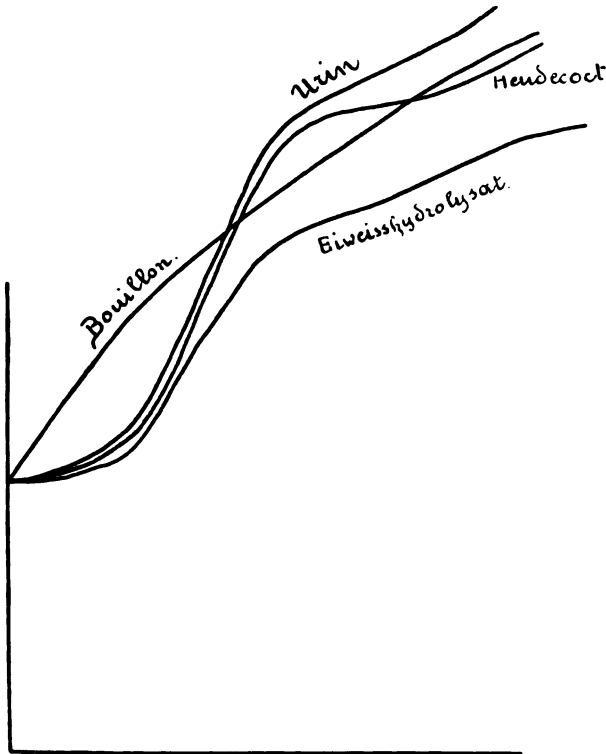


Fig. 3. Einfluß verschiedener Nährböden.

Versuch fortgesetzt wurde, die sich als reine und als typische Coli erwiesen, die anderen wurden natürlich weggeworfen.

Das Resultat überraschte insofern, als es sich herausstellte, daß die Kurven in ihrem Charakter vollständig den oben beschriebenen glichen. Die erste Kurve des unmittelbar aus dem Darne isolierten Keimes gleicht, wie Figur zeigt, der Urin- und Hendcockkurve, um dann in die typische Bouillonkurve überzugehen, nachdem die Kulturen einige Tage auf diesem Nährboden gezüchtet waren. Die beiden Figuren stammen von verschiedenen Keimen, stimmen aber unter sich in ihrem Charakter überein (vgl. Fig. 4).

Dadurch ist ein Experimentum crucis gemacht, indem nachgewiesen ist, daß der in Bouillon gezüchtete Keim von seiner bestimmten

Kurve abweicht, sobald er in anderem Nährboden (Urin und Heudekott) gezüchtet wird, auf der anderen Seite ändert er die Kurve, wenn er, aus Faeces isoliert, auf Bouillon gezüchtet wird. In allen Fällen ist die Bouillonkurve gleichartig.

Es erübrigt noch, die 4. Kurve der Fig. 3 zu betrachten; dieselbe ist von einem Nährboden erhalten, der durch leichte Eiweißhydrolyse hergestellt ist. Die Hydrolyse wurde durch längere Zeit einwirkende, stark verdünnte Sodalaug auf Hühnereiweiß bei Wasserbadtemperatur erhalten. Nach Neutralisierung des Reaktionsgemisches wurde das Filtrat längere Zeit gegen Wasser dialysiert und schließlich bei niedriger Temperatur eingedampft. Eine etwa 1-proz. Lösung in physiologischer Kochsalzlösung ist ein sehr guter Nährboden, er schien mir Peptonbouillon

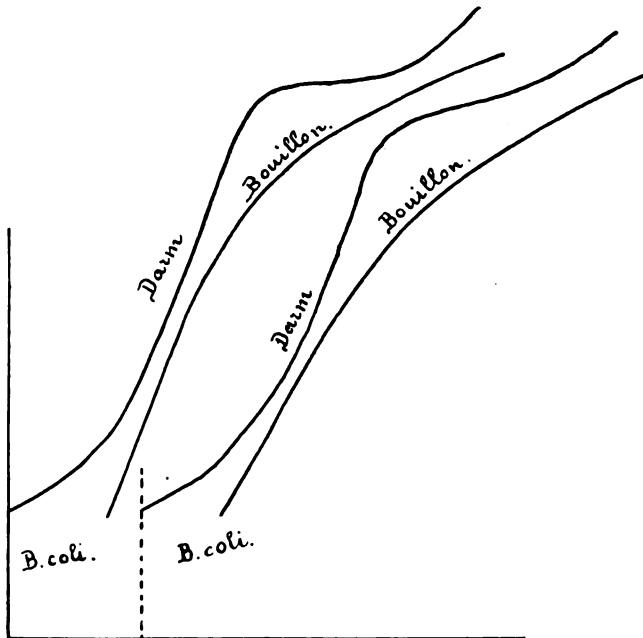


Fig. 4. Variation der Milchsäuerungskurve bei der Passage von Darm zu Bouillon.

überlegen zu sein. (Die Zusammensetzung desselben dürfte sich Paals lysalbinsaurem Natrium nähern.)

Die mit dieser Nährlösung erhaltene Kurve nähert sich in ihrem Charakter derjenigen, die mit Urin und Heudekott erhalten wurden, der zweite konvexe Knick liegt aber niedriger, die Kurve erreicht nie die Höhe der anderen, die Säuerung ist also geringer. Ferner stellte sich heraus, daß der Coli, in diesem Nährboden gezüchtet, die Fähigkeit, die Milch zu gerinnen, verliert.

Zu bemerken ist noch, daß die Kurve nach etwa 260 Stunden (auf der Figur nicht gezeichnet) mit einem Knick sich wieder der Abscisse nähert, d. h. der Nährboden (Milch) ist alkalischer geworden.

Von einer reinen Coli-Kolonie wurden 6 Kulturen angelegt, wovon 3 immer in Bouillon weitergezüchtet wurden und die anderen 3 (obige Kurve stammt von einem derselben) im Eiweißhydrolysat. Nach einiger Zeit ergab sich folgendes Resultat:

Die 3 in Bouillon weitergezüchteten Kulturen: Milchgerinnung = + + +
in obigem Nährboden: = - - -

Zum Vergleich sei die Kurve des *Bacillus suipestifer* wiedergegeben; die erste rasche Ansäuerung schlägt nach 30 Stunden (bei 22°) plötzlich um, die Kurve nähert sich der Abscisse, erreicht diese nach 70 Stunden und geht in den negativen Quadranten, ist also alkalisch geworden. Die Kultur ist von Král bezogen (vgl. Fig. 5).

Diese Versuche wurden schon 1905 ausgeführt und vollendet (vorläufige Mitteilung im *Annuario da Escola Polytechnica*); sie sind nicht vollständig, da sie nur die Säuerung der Milch betreffen. Durch Ausarbeitung entsprechender Methoden hoffe ich im stande zu sein, von jeder einzelnen Kultur in bestimmten, chemisch definierten Nährböden eine Serie von Engrammen zu geben, die durch genaue quantitative Analysen erhalten werden; leider sind die üblichen Methoden nicht geeignet, in kurzer Zeit größere genaue Serien-Analysen auszuführen, und dies ist die Grundbedingung für solche Versuche.

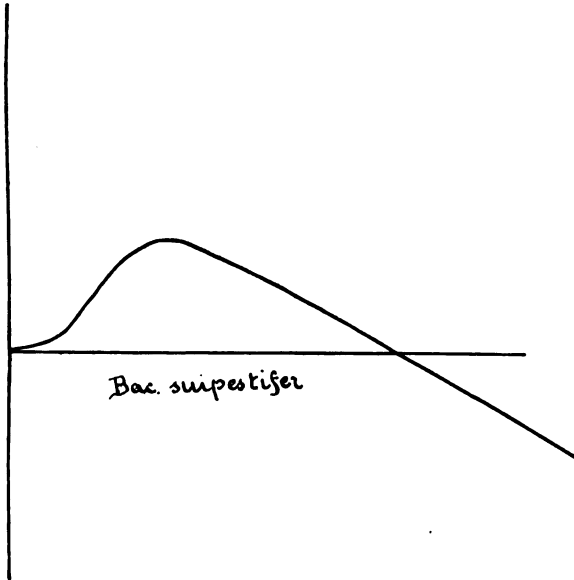


Fig. 5. Milchsäuerungskurve des *Bac. suipestifer*.

Der Wert dieser Kurvenmethode scheint der Beachtung wert, namentlich wenn sich die Konstanz derselben als charakteristisch erweist (vgl. Kurven in Bouillon), denn in diesem Falle könnte mit **wenigen Strichen** graphisch die Art genau charakterisiert werden, und zwar genauer als durch die eingehendsten Beschreibungen; in der Kurve tritt der ganze „Lebenslauf“ einer Kultur hervor, bei den jetzt üblichen Beschreibungen nur gewisse Endzustände.

Namentlich in Bezug auf den *Bacillus suipestifer* sei darauf hingewiesen, daß die Säuerung der Milch verschieden angegeben wird in Bezug auf Lackmusmolke. In einem Falle bleibende Rötung, im anderen (vgl. obige Kurve) nachfolgende Blaufärbung. Dieses Resultat erscheint sehr auseinandergehend, eventuell könnten die Kurven aber doch nahe übereinstimmen, dann nämlich, wenn in einem Falle die Kurve in den negativen Quadranten kaum merklich eintritt, die andere aber eben noch in dem positiven verläuft. Aus obiger Kurve scheint aber ein solcher Fall bei den beiden verschieden säuernden Bacillen nicht möglich, da die Kurve sich sehr stark senkt. Versuche weisen jedoch darauf hin, daß ein *Bacillus* in kurzer Zeit sich auf eine konstante Kurve züchten läßt; durch diese Methode wäre eventuell ein Schritt möglich, vorkommende Differenzen und Variationen in bestimmten Stämmen auf ein gewisses

Maß auszugleichen, so daß sie unter sich vergleichbar werden. Es wäre wertvoll, wenn es möglich wäre, auf diesem Wege die oft auch widersprechenden Angaben betreffend die Eigenschaften eines und desselben *Bacillus* zu vermeiden.

Die Schlußfolgerungen, die sich aus obigen Versuchen ziehen lassen, erscheinen mir mikrobiologisch und für die Frage der Spezifität von gewisser Wichtigkeit. In Bezug auf den *Bacillus* sind 3 verschiedene Punkte besonders ins Auge zu fassen:

1) Spielt der *Bacillus suipestifer* keine ursprüngliche Rolle bei der Schweinepest, so liegt die Frage nahe, warum derselbe nicht öfter als mehr saprophytischer Begleiter von anderen Bacillen, namentlich im Darm, Defäkationen etc. gefunden wurde.

2) Ist eine Schweinepest ohne Pestbacillus möglich?

3) Woher kommt der Schweinepestbacillus bei den sterilen Uebertragungen der Krankheit durch filtrierte Körperflüssigkeiten kranker Schweine?

Der erste Punkt wurde schon oben gestreift bei der Erörterung der Eigenschaften des *Bacillus*. Abgesehen von den verschiedenen Bacillen, die sich vom Schweinepestbacillus nicht trennen lassen durch ihre biologischen Merkmale, sei darauf hingewiesen, daß bei der Diagnose *Bacillus suipestifer* viel zu sehr auf die klinischen Anhaltspunkte abgestellt wird. Rein bakteriologisch wäre die Bestimmung und Trennung von einer Reihe anderer nicht durchführbar. Des weiteren sind die Eigenschaften des *Bacillus suipestifer* nicht so scharf umschrieben (etwa wie bei *Bacillus typhi*), namentlich was Indolbildung, Säuerung der Milch anbelangt, als daß in solchen Fällen nicht ebensogut die Diagnose auf *Paracoli* lauten könnte. Das subjektive Moment spielt dann eine viel größere Rolle, als es erwünscht ist. Die Grenze gegen den *Paracoli* ist nicht scharf zu ziehen, denn namentlich auf die Indolbildung ist oft kein Wert zu legen. Diese Eigenschaft kann sich unter der Hand des Beobachters verlieren. Ein *Paracoli*, den ich aus dem Blute eines an Staupe gestorbenen Hündchens isolierte, zeigte erst sehr ausgeprägte Indolbildung, die sich sehr leicht mit der Nitritmethode schon am 3. Tage nachweisen ließ. Bei der nächsten Abimpfung (auf ein ca. 100 ccm Kölbchen) wurde die Aldehydmethode herangezogen, die ganz negativ ausfiel, woran nicht, wie erst geglaubt wurde, die Reagentien die Schuld trugen, denn auch die Nitritmethode fiel nun ganz negativ aus. Eine Verwechslung der Kulturen ist ausgeschlossen. Solche Fälle scheinen ziemlich selten zu sein, meist wird es sich nur um eine mehr oder weniger ausgeprägte Verschiebung der Reaktion handeln.

Bei dem *Bacillus Sanarelli* wurde ebenfalls hervorgehoben, daß derselbe nur im Gelbfieberkranken gefunden wird und nie außerhalb des Körpers, es sei denn als gefahrbringende Verunreinigung der Infektion. Dies ist insofern zu erklären, als eben gleichartige Bacillen, die eventuell gefunden werden, den zum **Habitat** passenden Namen erhielten. Von einer Konstanz gewisser Kulturmerkmale, wie sie beschrieben wurden (halbmondförmige Agarkolonien etc.), ist keine Rede; es ist ja sogar die Beweglichkeit des *Bacillus* von **Lehmann** und **Neumann** nicht zu konstatieren gewesen. Des weiteren ist aufgefallen, daß gerade beim gelben Fieber mehrere Bacillen als Erreger aufgestellt wurden, die der *Coli*-Gruppe angehören und die alle außerhalb des Organismus nicht gefunden wurden. Daß es sich in diesen Fällen um eine Infektion mit den betreffenden Bacillen handeln könnte, scheint sehr

wenig wahrscheinlich. Nachträglich hat es sich auch herausgestellt, daß eine Infektionsgefahr mit diesen Bacillen nicht sehr groß sein kann, denn gesunde Menschen wurden mit sehr schmutziger Wäsche von Gelbfieberkranken zusammengebracht, ohne daß eine Erkrankung eintrat. Also auch in diesem Falle geringe Infektiosität mit Bacillenmaterial ohne Kontagiosität wie bei der **Schweinepest**.

Dies ist mit ein Grund, warum ich annahm, daß sich der respektive *Bacillus* auch bei Gelbfieber aus einem Darm-Coli bilden könne. Des weiteren ist die Pathogenität der Darm-Coli bei kranken Individuen bekannt, es handelt sich nur noch darum, zu prüfen, wie weit der Coli unter normalen Verhältnissen, also nicht unter für ihn schädlichen Bedingungen, zu variieren vermöge. Daß er gegen scheinbar unwesentliche Einflüsse, wie bei Passage von Defäkation zu Bouillon, schon durch nachweisbare Variation reagiert, wurde oben nachgewiesen. Daß er die Milch trotz prolongierter Weiterzucht in Milch nicht mehr zum Gerinnen zu bringen vermag, nachdem er in einem vorzüglichen Nährboden gezüchtet wurde, erhellen obige Versuche. Bei der Wahl des Nährbodens, dialysiertes Eiweißhydrolysat, wurde von der Ansicht ausgegangen, daß vielleicht sich ähnliche Veränderungen in der Leber abspielen dürften bei dem gelben Fieber und der Schweinepest. Die histologische Untersuchung der Leberzellen, namentlich im fixierten Präparate, macht den Eindruck, als ob es sich um autolytische Prozesse handle. Namentlich beim Vergleiche der intravital und fixiert untersuchten Leberzelle drängt sich diese Annahme auf (vgl. meine diesbezügliche Arbeit l. c.). Weitere, namentlich durch chemische Analysen begleitete Untersuchungen haben diesen Punkt näher zu beleuchten.

Die schwache Indolbildung, die sich bei vielen Schweinepestsystemen findet, halte ich „für Reminiscenzen aus der Coli-Zeit“, ebenfalls dürfte die gelegentlich beobachtete pyogene Eigenschaft, die Bildung von Abscessen an der Infektionsstelle, so erklärt werden dürfen.

Weitere Ausführungen aus dem Variationsproblem sollen hier nicht gemacht werden, immerhin sei bemerkt, daß jede Variation als ein Produkt aus Zeit, äußeren Einflüssen und Generationsfolge aufgefaßt wird; die Konstanz der Art kann als ein Gleichgewichtszustand mit den äußeren Einflüssen aufgefaßt werden; eine Aenderung dieser letzteren muß aber nicht notwendig sogleich mit einer Variation begleitet werden, es kann sich ein instabiles Gleichgewicht ohne Variation ausbilden, vergleichbar mit einer unterkühlten oder überkonzentrierten Lösung, bei welcher Aggregationszustandsänderung erst durch einen bestimmten Wecker hervorgerufen wird, nachdem die abnormalen Zustandsbedingungen oft schon lange eingewirkt hatten. Diese Auffassung ist im Variationsproblem allgemein anwendbar und ist dem Experimente zugänglich, namentlich hat sie noch den Vorteil, daß sie keine Einschachtelungstheorie darstellt.

Daß eine Schweinepest ohne den Pestbacillus möglich ist, hat Theiler nachgewiesen. Es ist anzunehmen, daß dieser Forscher, wenn auch nicht den *Bacillus suispestifer*, so doch nahe verwandte Formen gefunden hat. Leider sind in seiner Arbeit die Diagnosen nicht ausgeführt, indem nur das Augenmerk auf den *Bacillus suispestifer* gerichtet war; es scheint mir fast sicher, daß bei diesen Untersuchungen öfter *Paracoli* konstatiert wurde.

Daß sich bei Infektion eines Schweines mit keimfreiem Pestserum dennoch die Schweinepestbacillen gelegentlich nachweisen lassen, ist eine Forderung der oben erörterten Annahme, daß der *Bacillus coli* unter diesen bestimmten Verhältnissen eine Quelle des *Bacillus suipestifer* oder anderer *Paracoli* darstelle.

Auf obiger Anschauung fußend, wurde nun die Ansicht geäußert, daß *Bacillus suipestifer* ein vom Darm eingewandeter coli-ähnlicher Darmsaprophyt mit erworbenen pathogenen Eigenschaften sei, der immer, aber nicht ausschließlich, bei der Schweinepest gefunden werde. Die Begründung ist oben gegeben, und ist zusammengefaßt folgende:

Die Pathogenität des *Bacillus suipestifer* ist nicht konstant, sehr junge Kulturen sind namentlich virulenter befunden worden. Die subkutane Infektion ist fast erfolglos, gegen enterale Infektion besteht eine verhältnismäßig hohe Resistenz, während endovenös oft kleinste Dosen tödlich wirken können. Alte und junge Tiere sind empfänglich.

Die Inkubation stimmt fast nie mit derjenigen der spontanen Seuche; bei einiger Vorsicht lassen sich Ferkel fast reaktionslos immunisieren, wenn mit enteraler Infektion begonnen wird.

Die bacilläre Krankheit hat keineswegs kontagiösen Charakter, stimmt also mit der spontanen Seuche in diesem Punkte nicht überein. Die vier Bedingungen, die Koch betreffend die Spezifität eines Mikroben aufgestellt hat, sind bei kontagiösen Krankheiten dahin zu erweitern, daß durch die künstliche Uebertragung der kontagiöse Charakter (falls er bei bacillären Erkrankungen überhaupt zu konstatieren ist) erhalten bleibe, oder allgemeiner, daß auf den epidemiologischen Verlauf der künstlich erzeugten Erkrankung Rücksicht genommen werde.

Die histologischen und pathologisch anatomischen Veränderungen bei mit *Bacillus Sanarelli* und *Bacillus suipestifer* infizierten Tiere sind dieselben.

Bacillus suipestifer und *Bacillus Sanarelli* sind nicht sicher auseinanderzuhalten; beim gelben Fieber wurden aber verschiedene Bacillen aus der *Coli*-Gruppe als spezifisch angesehen, die ebensowenig wie *Bacillus suipestifer* gewöhnlich außerhalb des Körpers gefunden wurde, wie man es doch in Analogie mit Typhus, Cholera etc. erwarten sollte.

Die verschiedenen Schweinepestbacillen sind je nach den Seuchen verschieden, wie die Herstellung polyvalenter Sera begründet, ein wichtiges biologisches Merkmal ist also Schwankungen von Seuche zu Seuche unterworfen. Diese Schwankungen müssen als Anpassungserscheinungen an den kranken Organismus aufgefaßt werden. Das gleiche gilt vom *Bacillus coli* (Individualcoli aus Säuglingsstühlen).

Der *Bacillus suipestifer* ist nicht einheitlich beschrieben, er nähert oder entfernt sich mehr oder weniger

dem *Bacillus coli* (Säuerung in Milch, Indolbildung, pyogene Eigenschaften etc.).

Die Bekämpfung des *Bacillus suipestifer* bei der Schweinepest hat sich, wie aus der Statistik erhellt, für die Ausbreitung der Seuche als wertlos herausgestellt¹⁾.

Bei der Schweinepest in Afrika ist der *Bacillus suipestifer* nicht gefunden worden.

Bei der mit künstlicher Infektion durch filtriertes Virus erzeugten Schweinepest kann gelegentlich der Schweinepestbacillus wiedergefunden werden.

Der *Bacillus coli* erleidet, je nach den Nährböden, in denen er gezüchtet wird, selbst in den günstigsten, Variationen, die zum Verlust der Milchgerinnung führen können. Die Fähigkeit der Indolbildung kann leicht völlig verloren gehen.

Die Passagen des *Bacillus coli* aus dem Darm auf Bouillon, Urin, Heudekokt, Eiweißhydrolysat etc. bedeuten für den *Bacillus* Änderungen der äußeren Bedingungen, die in kurzer Zeit wesentliche Variationen bedingen. Dieselben lassen sich durch Konstruktion von Kurven sehr deutlich darstellen, namentlich in den Fällen, wo geringere Variationen sich sonst der Beobachtung völlig entziehen.

(Bezüglich der Literatur muß auf Joest in Kolle und Wassermann sowie auf Grabert verwiesen werden. Die Literatur über das Variationsproblem soll in einer folgenden Arbeit gewürdigt werden.)

Nachdruck verboten.

Ist die Wut vererbbar? Ist das Blut Lyssakranker infektiösfähig?

(Fortgesetzte Untersuchungen.)

[Mitteilung aus dem Institute für allgemeine Pathologie und Therapie der königl. ungar. Franz Josef-Universität in Kolozsvár. Direktor Dr. J. v. Löte, o. ö. Professor.]

Von Privatdozenten Dr. **Daniel Konrádi**, Assistenten am Institute.

In einer früheren Mitteilung²⁾ berichtete ich über Untersuchungen, die zu dem Schlusse führten, daß das Wutvirus von der Mutter auf den Fötus übergeht, aber inzwischen abgeschwächt zu werden scheint. In derselben Mitteilung konnte ich auch nachweisen, daß es notwendig ist, die Beobachtungsdauer der infizierten Tiere auf ungefähr 1½ Jahre zu verlängern, da die aus den Föten infizierten Tiere viel später, nach 91, 105, 210, 475 Tagen, an Wut eingehen. Ich betonte auch damals schon, daß man zu solchen Untersuchungen nicht nur Kaninchen, sondern auch Meerschweinchen benutzen muß, da diese für die Wut empfänglicher sind. In diesen zwei Bedingungen sah ich die

1) Hottinger, *Annuaris da Escola Polytechnica São Paulo* 1904/05.

2) *Dieses Centralbl.* Bd. XXXVIII. 1905. p. 60.

Ursache der früher negativ ausgefallenen Untersuchungen anderer, dort angeführten Forscher.

In meiner ersten Mitteilung berichtete ich über zwei Untersuchungsreihen. In der ersten wurden aus vier Föten 8 Meerschweinchen und 2 Kaninchen, in der zweiten aus einem Fötus 2 Meerschweinchen und 1 Kaninchen unter die harte Hirnhaut infiziert. Diese Tiere gingen alle an typischer Wut ein.

Bei der Besprechung der diesbezüglichen Literatur wurde ein interessanter Fall von Loir zitiert, nach welchem ein am 3. Tage der ausgebrochenen Wut sich befindendes Kaninchen ein lebendiges Junges warf, das 4 Stunden später zugrunde ging. Von den zwei aus diesem subdural geimpften Kaninchen ging das eine nach 7, das andere nach 9 Tagen unter den typischen Erscheinungen der Wut ein. Einen ähnlichen Fall hatte ich auch zu beobachten Gelegenheit. Dieser Fall diene als Ausgangspunkt einer neueren Untersuchungsreihe.

Es handelt sich um ein Kaninchen, welches am 30. Mai 1905 aus einem an typischer Wut zugrunde gegangenen Huhn unter die harte Hirnhaut, zu gleicher Zeit mit einem Meerschweinchen, infiziert wurde. Das Meerschweinchen bekam die Wut nach einer Inkubation von 10 Tagen und ging innerhalb 24 Stunden daran zugrunde. Das Kaninchen aber zeigte diejenige Form der experimentellen Lyssa, welche zuerst von v. Löte unter dem Namen *Lyssa recurrens* beschrieben wurde. Diese Form der experimentellen Wut unterscheidet sich von der typischen darin, daß das infizierte Kaninchen öfters Fieberanfälle, ja sogar manchmal auch andere typische Erscheinungen zeigt, welche 2—4 Tage lang dauern und dann auf kürzere oder längere Zeit, ja sogar auch gänzlich, verschwinden können. Dieses Kaninchen zeigte 3 solcher Anfälle, und zwar einen 2-tägigen am 26.—27., einen 3-tägigen am 36.—38. und einen 4-tägigen am 42.—45. Tage nach der Infektion. Daß dieses Kaninchen aber dennoch an reiner Wut zugrunde gegangen ist am 505. Tag nach der Impfung, das beweist einerseits die ohne Erfolg gebliebene Aussaat auf Agar-Agar, andererseits das Tierexperiment. Es wurde nämlich aus seinem Marke ein Meerschweinchen unter die harte Hirnhaut infiziert, welches nach 37 Tagen an typischer Wut einging.

Dieses Kaninchen warf am 18. Tage nach der Infektion, 9 Tage vor dem ersten Fieberanfall, zwei lebendige Junge. Diese Jungen waren sehr schwach, saugten kaum und gingen nach 24 Stunden zugrunde. Ihr Körpergewicht betrug 50—56 g. Bei ihrer Sektion war das Blut flüssig, die Hirnhäute etwas injiziert, im Magen sahen wir teils koagulierte, teils flüssige Milch.

Aus dem verlängerten Marke beider Jungen wurden sofort Weiterimpfungen gemacht. Die zwei aus dem ersten Jungen subdural infizierten Meerschweinchen bekamen die Wut am 24. Tage und gingen nach 6-tägiger Krankheitsdauer daran zugrunde. Das eine der aus dem zweiten Jungen infizierten Meerschweinchen erkrankte auch am 24. Tage und ging unter den typischen Erscheinungen der Wut nach einer Krankheitsdauer von 5 Tagen ein, das andere aber zeigte die Form der *Lyssa recurrens*. Es zitterte nämlich am 24. Tage nach der Infektion, also zu gleicher Zeit wie die anderen, war sehr empfindlich, besonders bei Nackenberührung, am 27. Tage war sein Hinterleib schwach, konnte, auf seine Seite gelegt, nur sehr schwer die richtige Körperhaltung wiedergewinnen. Am 30. Tage ging es ihm aber besser, es war munter,

nahm wieder Nahrung zu sich und zeigte die Haltung eines ganz gesunden Tieres. Am 51. Tage wurde es aber wieder krank und ging am 53. Tage an typischer Wut ein. Wutfälle mit gleichem Verlauf beobachteten wir auch an Kaninchen und beschrieben sie in der ersten Mitteilung als Rezidiv der Lyssa.

Wie diese Erfahrungen beweisen, gingen die aus diesen Jungen infizierten Meerschweinchen alle an Wut zugrunde. In allen Fällen blieb die Aussaat aus ihrem Marke steril. Es wurden aber in jedem Falle auch Weiterimpfungen gemacht, und zwar sowohl an Meerschweinchen, als auch an Kaninchen. Diese Weiterimpfungen bezweckten, erstens auf ganz sichere Weise die Wutdiagnose zu stellen, zweitens zu sehen, ob das Lyssavirus etwa keine Modifikation erlitten hat. Die weiterinfizierten Meerschweinchen gingen alle unter den typischen Erscheinungen der Wut ein, und zwar nach 32–34 Tagen, hingegen bekamen von den infizierten Kaninchen nur zwei die Wut, und zwar das eine nach 76, das andere nach 150 Tagen, die anderen blieben am Leben und lebten auch nach 1½ Jahr.

* * *

Eine andere Untersuchungsreihe wurde am 13. April 1907 begonnen. An diesem Tage fanden wir in einer an Straßenwut zugrunde gegangenen Hündin 7 gut entwickelte Föten. Es wurden sowohl aus dem Muttertiere, als auch den Föten Meerschweinchen und Kaninchen subdural geimpft. Die zur Impfung benutzten Markemulsionen erwiesen sich nach Aussaat auf Agar-Agar auch in diesen Fällen steril. Im Ammonshorn des Muttertieres sahen wir viele Negrische Körperchen. (Leider wurde nach diesen Körperchen im fötalen Marke nicht gesucht.) Die Ergebnisse dieser Untersuchungsreihe sind aus der folgenden Tabelle zu ersehen.

Wie aus dieser Tabelle zu ersehen ist, gingen alle aus dem Muttertiere und den Föten infizierten Meerschweinchen an Lyssa zugrunde. Es bekam die Wut auch das aus dem Fötus No. I infizierte Kaninchen. Interessant ist die Krankheitsgeschichte des aus dem Muttertiere geimpften Kaninchens. Dieses Kaninchen ist 25 Tage nach der subduralen Infektion krank, die ausgebrochene Krankheit dauerte 10 Tage lang und es **genas**¹⁾.

Wie aus der Tabelle noch zu sehen ist, zeigten die Tiere einen großen Gewichtsverlust, und zwar um die Hälfte des ursprünglichen Körpergewichts. Dieser große Gewichtsverlust nach Wutinfektion ist aus den Untersuchungen von v. Löte schon seit dem Jahre 1888 bekannt. Die Ursache dieses Umstandes fand v. Löte einerseits im Fieber, andererseits und besonders in der vermehrten Urinexkretion.

Auch in dieser Untersuchungsreihe wurden Weiterimpfungen gemacht, ja sogar aus dem Fötus No. III durch zwei Passagen. Die weitergeimpften Meerschweinchen erlagen der Wut in der ersten Passage nach 26–27, in der zweiten aber erst nach 31–35 Tagen. Die weitergeimpften Kaninchen zeigten auch den gleichen Verlauf und gingen nach 157, resp. nach 194 Tagen ein.

1) Solche in Genesung übergegangene Fälle beobachteten wir auch früher. Ueber diese und in der Literatur bemerkte gleiche Fälle soll in einer anderen Mitteilung die Rede sein.

Infektionsstoff und infiziertes Tier	Körpergewicht vor der Infektion in g	Dauer		Gewichtsverlust um des ursprünglichen	Resultat
		der Inkubation Tage	des Stadium morbi Tage		
Aus dem Muttertiere infiziertes Meerschweinchen	300	18	3	$\frac{1}{8}$	Typische Wut mit vielen Negrischen Körperchen
Aus dem Muttertiere infiziertes Kaninchen	1500	25	10	—	Lebt noch Anf. Juni 1908
Aus dem Fötus No. I infiziertes Meerschweinchen	500	18	3	$\frac{1}{2}$	Typische Wut mit vielen Negrischen Körperchen
Aus dem Fötus No. I infiziertes Kaninchen	1300	78	5	$\frac{2}{3}$	do.
Aus dem Fötus No. II infiziertes Meerschweinchen	500	22	7	$\frac{1}{2}$	do.
Aus dem Fötus No. III infiziertes Meerschweinchen	500	22	8	$\frac{1}{2}$	do.
Aus dem Fötus No. IV infiziertes Meerschweinchen	500	22	7	$\frac{1}{2}$	do.
Aus dem Fötus No. V infiziertes Meerschweinchen	480	19	4	$\frac{1}{2}$	do.
Aus dem Fötus No. VI infiziertes Meerschweinchen	520	19	3	$\frac{1}{2}$	do.
Aus dem Fötus No. VII infiziertes Meerschweinchen	380	19	4	$\frac{1}{2}$	do.

Es bestärken also auch diese Untersuchungen die in meiner ersten Mitteilung schon aufgestellte Konklusion, daß das Wutvirus von der Mutter auf den Fötus übergeht, es wird aber abgeschwächt, deshalb bricht die Wut an den weitergeimpften Tieren successive später und später aus.

* * *

Nach meiner ersten Mitteilung berichtete Galli-Valerio über Untersuchungen, die er an verschiedenen Ratten, Mäusen etc. teils nach fixem, teils nach Straßenvirus beobachtet hat. In dieser Mitteilung finden wir eine diesbezügliche Erfahrung. Galli-Valerio fand nämlich im Uterus einer weißen Ratte, die nach Virus fixe-Infektion erlag, 2 Föten. Mit der Gehirnemulsion dieser Föten wurde ein Meerschweinchen infiziert, welches aber nach Galli-Valerio keine Wuterscheinungen zeigte. Dieses Meerschweinchen stand aber nur 35 Tage lang in Beobachtung, denn am 36. Tage wurde es mit einem anderen Virus wieder infiziert, von welchem dasselbe nach 4 Tagen an Lyssa erkrankte.

Nach meiner Meinung war es nicht richtig, dieses Tier so früh zum zweiten Male zu infizieren, denn es bricht die Wut — wie ich dies in meiner ersten Mitteilung nachweisen konnte — an den aus den Föten geimpften Meerschweinchen manchmal erst nach 91—98 Tagen aus. Galli-Valerio hat dies auch bemerkt, denn in der Anmerkung schreibt er darüber folgendes: „Dans ce cas probablement, l'animal inoculé a été gardé trop peu de temps en observation, car Konrádi (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. T. XXXVIII. 1905. p. 60) „a vu dans un cas analogue incubations de 1½ en environ.“

Dieser Umstand soll nur deshalb erwähnt werden, da so die Beobachtung von Galli-Valerio in dieser Frage gar nichts beweist.

Die oben angeführten Erfahrungen sind aber auch in anderer Hinsicht von Interesse. Die Jungen nämlich, von denen hier die Rede war, wurden am 18. Tage nach der Infektion, 9 Tage vor dem ersten Fieberanfall, geboren. Und in diesen konnten wir das Lyssavirus durch Tierexperimente nachweisen. Also war das Wutvirus in den Jungen, welche während der Inkubation geboren wurden, vorhanden. Die Inkubation dauerte aber nach der Geburt der Jungen noch 9 Tage lang. Mit anderen Worten: 9 Tage vor dem Erscheinen des ersten typischen Symptoms, des Fiebers, zirkulierte schon das Lyssavirus im Blute des Muttertieres und so passierte es auch die Placenta. Denn daß mit dem Erscheinen des Fiebers im Zentralnervensystem z. B. das Virus wirklich nachzuweisen ist, das beweisen auch unsere in dieser Richtung vorgenommenen Untersuchungen. Wir entnahmen nämlich aus dem Gehirn der mit Wutvirus infizierten Kaninchen beim Erscheinen des Fiebers ein kleines Stückchen und impften dasselbe unter die harte Hirnhaut von Meerschweinchen. Die auf diese Weise infizierten Meerschweinchen erkrankten nach einer Inkubation von 27, 28, 35 Tagen und gingen nach einer Krankheitsdauer von 4, 5, 6, 10 Tagen unter den typischen Erscheinungen der Wut ein. Das Herausschneiden des Gehirnstückchens, resp. das Erscheinen des Fiebers geschah 5—11 Tage vor dem Tode der Tiere. Es enthält also die Rindensubstanz des Lobus parietalis das Wutvirus schon 5—11 Tage vor dem Tode.

Diese Meerschweinchen erlagen also der Wut, obwohl etwas später und nach einer längeren Krankheitsdauer, als diejenigen, welche aus dem Kaninchen nach dem Tode desselben infiziert wurden. Die Ursache dieses längeren Verlaufes und späteren Erscheinens der Wutsymptome kann entweder darin gelegen sein, daß im Gehirn zu dieser Zeit noch wenig Virus vorhanden ist, oder aber, daß wir keine genügende Quantität geimpft haben. Denn wir wissen ja aus den interessanten Untersuchungen von Nitsch, daß auch beim Lyssavirus eine Dosis letalis minima existiert, von welcher die Tiere nach subduraler Infektion noch gerade zugrunde gehen; wenn wir aber unter diese Grenze kommen, so bleiben die geimpften Tiere am Leben. Wir wollten aber nicht allzugroße Stückchen des Gehirns Herausschneiden, damit wir nicht durch diesen Eingriff Schaden erleiden.

Daß wirklich die geringere Quantität des Virus die Ursache des längeren Verlaufes war, konnten wir damit bestätigen, daß, wenn wir aus diesen Meerschweinchen Weiterimpfungen machten, dann erkrankten die

weitergeimpften Tiere zu gleicher Zeit, als die aus den Kaninchen nach ihrem Tode infizierten Meerschweinchen.

Diese Erfahrung bildet zugleich einen Beitrag zu der im praktischen Leben sehr wichtigen Frage: Wie viele Tage vorher kann ein Tier, z. B. ein Hund, die Wutkrankheit übertragen, ehe er die ersten Symptome der Wut zeigt? Diese Frage ist nach den neueren Beobachtungen und Untersuchungen von sehr großer Bedeutung und erschwert auch dem Fachmanne die Antwort, welche von den Leitern der Pasteur-Institute manchmal gefordert wird, ob in einem gegebenen Falle, wenn jemand von einem scheinbar gesunden Hunde gebissen wurde, die antirabische Schutzimpfung zu empfehlen ist. An Menschen vorgekommene Infektionen und Experimentaluntersuchungen beweisen, daß ein Hund die Wutkrankheit bedeutend früher übertragen kann, als er die ersten Symptome der Wutkrankheit zeigt.

Es ist in dieser Beziehung ein Fall von Pampoukis sehr lehrreich. Eine Frau wurde durch einen Hund gebissen, welcher erst nach 8 Tagen an der Tollwut erkrankte. Die Frau wollte sich den Schutzimpfungen nicht unterwerfen. Nach 69 Tagen erkrankte aber diese Frau an der Wut und starb daran binnen 2 Tagen. Dieser Hund hat also die Wutkrankheit 8 Tage vorher übertragen, ehe er die ersten Symptome der Wutkrankheit zeigte. Remlinger hatte einen ähnlichen Todesfall bei einem Menschen beobachtet, dem während der Befriedigung eines körperlichen Bedürfnisses ein Hund an der Analöffnung geleckt hatte. (Aus der Mitteilung von Galbiati, wo dieser Fall erwähnt wird, kann man keine näheren Daten ersehen.) Auch Pace beschreibt einen interessanten Fall. Es handelte sich um einen 47 Jahre alten Mann, welcher sich Tollwut zuzog, indem er von seinem eigenen Hündchen in den Nasenflügel geleckt wurde. Der Hund erlag nach 6 Tagen an Wut. Dieser Mann zeigte die ersten Zeichen der Wutkrankheit nach 31 Tagen und starb am 6. Krankheitstage. Sehr lehrreich ist auch die Beobachtung von Koppitz. Ein Hund biß einen Knaben und 3 Mädchen und wurde deshalb von der Eigentümerin an den Hundeschlächter verkauft. Dieser Hund legte nach dem Biß eine Strecke von 9 km zurück, ohne die geringsten Wuterscheinungen oder mürrisches und böses Benehmen zu zeigen. Da nicht bekannt war, daß dieser Hund von einem anderen gebissen wurde, und da die vor dem Schlachten vorgenommene, den Wutverdacht besonders berücksichtigende tierärztliche Untersuchung nicht die geringsten Anhaltspunkte für das Vorhandensein der Wut ergab, so nahm man an, der Hund sei von Natur aus bissig gewesen und unterließ weitere Vorsichtsmaßregeln. Aber nach einer Inkubation von 44 Tagen erkrankte eines von den gebissenen Mädchen an Lyssa und starb den nächsten Tag darauf. Meiner Meinung nach wurde hier vom Tierarzt ein großer Fehler begangen, erstens, weil er diesen Hund nicht länger beobachtet hat, zweitens, weil er nach dem Schlachten das Tier nicht auf Negrische Körperchen untersucht hatte. Hätte er auf diese Bedingungen geachtet, so hätte er die Schutzimpfungen für notwendig gehalten.

Von noch größerer Bedeutung ist ein Fall von Zagarrio. Er beschreibt einen Fall von einem Hunde, der an Tollwut erkrankt war, weil er von einem anderen Hunde gebissen worden war, der seinerseits die Wutkrankheit erst 13 Tage später zeigte, nachdem er ersteren gebissen hatte.

Es gibt aber auch Experimentaluntersuchungen in der Literatur,

welche diese Frage näher beleuchten. So ist es durch die Experimente von Roux und Nocard bekannt, daß Hunde die Wutkrankheit schon 3 Tage vorher übertragen können, ehe sie die ersten Symptome zeigen. Nach Rabieaux ist die Glandula submaxillaris der Hunde noch vor Ausbruch der Krankheit, 2—4 Tage vor der Erscheinung der Symptome infektiösfähig, ja sogar auch zu einer Zeit, bevor man mit dem Gehirn die Tollwut überimpfen kann. Aus den Untersuchungen von Nicolas zeigte sich, daß schon 6 Tage vor Ausbruch der Wut Virus im Speichel nachzuweisen war. Das Auftreten des Virus im Speichel ging mit der prodromalen Hyperthermie Hand in Hand. Remlinger machte auch Versuche an Kaninchen mit Virus fixe, um feststellen zu können, zu welcher Zeit das Gehirn der Kaninchen virulent wird. Die Kaninchen sind subdural geimpft worden und nach einem Tage nach der Impfung angefangen, wurde tagtäglich ein Versuchstier geopfert und mit dem Gehirn wurden Kaninchen wieder geimpft. Die Versuche zeigten, daß das Gehirn nach 24—48 Stunden noch nicht, dagegen nach 3 Tagen immer virulent ist. In einer anderen Mitteilung wollte Remlinger erforschen, von welcher Zeit an das Gehirn von Menschen und Tieren, die von einem wutkranken Hunde gebissen wurden, virulent ist. Zu diesem Zwecke impfte er Meerschweinchen und Kaninchen subkutan, oder intramuskulär mit Virus fixe und tötete die Versuchstiere, um aus dem Gehirn derselben subdurale Impfungen an Kaninchen vornehmen zu können. Er konnte nachweisen, daß das Gehirn schon 11 oder 12 Tage vor dem Tode des Tieres virulent sein kann. Meiner Meinung nach hätten diese Untersuchungen die natürlichen Verhältnisse besser nachgeahmt, wenn Remlinger anstatt Virus fixe Straßenvirus geimpft hätte. Nitsch stellte auch diesbezügliche Untersuchungen an und konnte zeigen, daß die Gehirnrinde schon den Tag nach der Impfung virulent ist. Die Untersuchungen von Bertarelli zeigen, daß das Ammonshorn bereits 4 Tage vor dem Ausbruch der ersten Symptome ansteckend wirken kann, sobald am Ischiadicus die Einimpfung erfolgt, sei es mit Straßenvirus oder mit Virus fixe.

Aus all diesem folgt, daß der Hund bereits 6, 8, ja sogar 13 Tage vor dem Ausbruch der ersten Symptome der Wut diese Krankheit übertragen kann.

Meine Beobachtungen sind aber noch in einer Hinsicht von Interesse. Ich stellte schon in meiner ersten Mitteilung die Frage auf: Auf welchem Wege verbreitet sich das Lyssavirus von der Mutter auf den Fötus? Ich erwähnte schon damals, daß die meisten Forscher der Meinung sind, daß das Virus durch das Placentablut deshalb nicht übergehen kann, da das Blut kein Virus enthält. Ich stellte mir aber den Uebergang schon in der ersten Mitteilung durch das Placentablut vor und glaubte, daß der Nachweis eines solchen Ueberganges öfters gelungen wäre, wenn die Forscher nicht nur Kaninchen, sondern auch Meerschweinchen zu ihren Experimenten gebraucht hätten und wenn die Beobachtungsdauer eine längere gewesen wäre.

Zu demselben Endresultate führen auch die in dieser Mitteilung angeführten Untersuchungen. Der Untergang des Lyssavirus kann nur durch das Placentablut geschehen. Einen anderen Uebergang könnte man sich in der ersten Untersuchungsreihe, wo von lebenden Jungen die Rede ist, gar nicht vorstellen. In denjenigen Fällen,

in denen die Föten nach dem Tode der Muttertiere entnommen wurden, könnte man auch daran denken, daß das Virus nach dem Tode vielleicht diffundiert. Aber gegen diese Annahme spricht schon der Umstand, daß die Föten sozusagen im Momente des Todes herausgenommen wurden, es gibt aber auch Experimentaluntersuchungen, die dagegen sprechen. Solche Untersuchungen hat neuestens Nitsch vollführt. Nitsch legte das Gehirn von an Lyssa eingegangenen Tieren auf das Gehirn und die Leber von gesunden Tieren und hielt diese Organe bei Zimmertemperatur und Lichtabschluß 48—72 Stunden lang, dann impfte er die von 1—5 mm Tiefe herausgeschnittenen Stückchen der gesunden Organe unter die harte Hirnhaut von Meerschweinchen, welche nach einer Beobachtungsdauer von 2 Monaten noch keine Wuterscheinungen zeigten.

Es kann also in allen Fällen nur vom Virusgehalt des Blutes die Rede sein.

Nach meiner Mitteilung teilte Marie die Resultate seiner Untersuchungen mit, in denen er untersuchte, ob das Blut Lyssavirus enthält. Er konnte mit dem Blute von 20 an Wut leidenden Tiere nur 2mal die Anwesenheit des Virus im Blute nachweisen. Bei der Behandlung dieser Frage im Handb. d. pathog. Mikroorg. schreibt Frosch darüber folgendes: „Ferner scheinen Versuche von Konrádi und Marie zu zeigen, daß allerdings sehr selten auch im zirkulierenden Blute das Wutvirus sich befinden kann. Jedenfalls kann aus diesen Resultaten nur ein gelegentlicher Uebertritt des Virus in die Blutbahn geschlossen werden.“

Um diese Frage näher zu untersuchen, stellten wir auch diesbezügliche Untersuchungen in den letzten Jahren an. Die Impfungen geschahen mit dem Blutserum von im Stadium morbi entbluteten Tieren. Die Resultate dieser Untersuchungen zeigt die hier folgende Tabelle.

Wie diese Untersuchungen beweisen, ist das Blut eines an Lyssa erkrankten Tieres immer infektiösfähig, sei es mit Straßenvirus, sei es mit fixem Virus infiziert, nur enthält das Blut dieses Virus wahrscheinlich in einer geringeren Quantität. In diesem Umstande könnte die Ursache liegen, daß nur die Meerschweinchen erkrankten, hingegen bekamen unter den Kaninchen nur eines die Wut und zwar nach einer ziemlich langen Inkubation. Auch die Hündchen blieben am Leben, obwohl ich sehr junge Tiere zu diesen Untersuchungen benützte.

Es soll hier noch einmal bemerkt werden, daß wir nicht nur in diesen, sondern auch in unseren früheren Untersuchungen die Erfahrung machen konnten, daß das empfänglichste Tier für die Wut das Meerschweinchen ist, dann folgt der Hund und erst später das Kaninchen, obwohl hier ein Kaninchen erlag und keines von den Hündchen.

Diese Untersuchungen beweisen auch, wie wichtig es ist, zu solchen Untersuchungen Meerschweinchen zu gebrauchen und die Beobachtungsdauer zu verlängern, denn wenn man auf diese Bedingungen nicht beachtet, so kann man sehr leicht zu falschen Resultaten gelangen. Aus diesem Grunde kann ich z. B. die diesbezügliche Erfahrung von Galli-Valerio nicht ohne Bemerkung lassen. Er impfte nämlich das Blut einer an fixem Virus eingegangenen schwarzen Ratte unter die Haut von drei weißen Ratten, eines Kaninchen und eines Meerschweinchens, außerdem infizierte er mit demselben Blute zwei weiße Ratten und ein Meerschweinchen von der Peritonealhöle aus. Diese zeigten nach Galli-Valerio gar keine Erscheinungen. Aber auch in diesen Fällen dauerte die Be-

obachtung nur 41, 42, resp. 47 Tage, nach welcher Zeit einige dieser Tiere abermals infiziert wurden. Aus diesem Grunde beweisen diese Ergebnisse gar nichts in dieser Frage.

Datum	Infektionsstoff	Infiziertes Tier	Menge des geimpften Blutserums	Resultat
2. Febr. 1906	Mit unserem fixen Virus infiziertes Kaninchen	Meerschweinchen (600 g)	2,0 ccm subkutan	Typische Wut nach 27 Tagen. Viele Negrische Körperchen
31. März 1906	Dasselbe	Meerschweinchen (600 g)	3,0 ccm subkutan	Dasselbe am 27. Tage
4. April 1906	Mit Budapest. fixem Virus infiziertes Kaninchen	Meerschweinchen (600 g)	2,5 ccm subkutan	Dasselbe am 30. Tage
4. Mai 1906	Mit unserem fixen Virus infiziertes Kaninchen	Kaninchen (800 g) (5 Monate altes Tier)	0,1 ccm subdural	Bleibt am Leben. Lebt nach 1½ Jahr
4. „ „	do.	Kaninchen (950 g)	1,0 ccm intravenös	do.
4. „ „	do.	„ (650 „)	1,0 ccm subkutan	do.
15. Dez. 1906	Dasselbe	Meerschweinchen (350 g)	3,0 ccm subkutan	Typische Wut nach 24 Tagen. Viele Negrische Körperchen
15. „ „	do.	Meerschweinchen (350 g)	3,0 ccm subkutan	Dasselbe am 25. Tage
15. „ „	do.	Kaninchen (1600 g)	3,0 ccm subkutan	Bleibt am Leben
15. „ „	do.	Kaninchen (1700 g)	3,0 ccm subkutan	do.
9. Juni 1907	An Straßenwut erkrankter Hund	Meerschweinchen (600 g)	0,1 ccm subdural	Typische Wut nach 31 Tagen. Viele Negrische Körperchen
9. „ „	do.	Meerschweinchen (250 g)	2,0 ccm subkutan	Dasselbe nach 28 Tag.
9. „ „	do.	Meerschweinchen (250 g)	2,0 ccm intraperitoneal	„ „ 27 „
9. „ „	do.	Kaninchen (750 g)	1,0 ccm intravenös	„ „ 152 „
9. „ „	do.	Kaninchen (1100 g)	0,1 ccm subdural	Bleibt am Leben
9. „ „	do.	Kaninchen (800 g)	2,0 ccm intramuskulös	do.
9. „ „	do.	Hündchen (1200 g)	1,2 ccm subkutan	do.
9. „ „	do.	Hündchen (3000 g)	3,0 ccm intramuskulös	do.

Galli-Valerio will aber einen Unterschied im Virusgehalt des Blutes von mit fixem und Straßenvirus infizierten Tieren sehen, da er im Blute einer an Straßenvut erlegenen schwarzen Ratte das Virus nachweisen konnte.

* * *

Diese Mitteilung war schon druckfertig, als eine Arbeit von Adamoff im 4. Heft des Centralbl. f. allgem. Patholog. u. patholog. Anatomie am 29. Februar 1908 erschien, in welcher Adamoff die Veränderungen des Herzmuskels, der Leber, der Nieren und der Bauchspeicheldrüsen bei der Tollwut beschreibt. Nach diesen Untersuchungen rufen sowohl das

fixierte wie auch das Gift der Straßenwut in den erwähnten Organen ein und dieselbe Veränderung hervor. „Die Erscheinungen der Entzündung entwickeln sich allem Anschein nach nicht nur als Reaktion auf die Veränderungen des Herzmuskels, sondern auch als Folge der unmittelbaren Reizung der Zellen durch das im Blute zirkulierende Virus der Tollwut“, sagt Adamoff. Interessant ist auch diejenige Erfahrung von Adamoff, daß sich die beständig vorkommenden Veränderungen schon vor dem Eintreten der deutlichen Symptome der Tollwut zeigen. Dies stimmt auch mit meiner Erfahrung überein, nach welcher das Blut schon 9 Tage vor dem Erscheinen der ersten Symptome infektiösfähig war.

Die Untersuchungen von Adamoff beweisen auf einem anderen Weg meine schon früher erwähnte Behauptung, nach welcher das Lyssavirus im Blute Lyssakranker beständig vorhanden ist.

Literatur.

- Adamoff, Veränderungen des Herzmuskels, der Leber, der Nieren und der Bauchspeicheldrüse bei der Tollwut. (Centralbl. f. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. XIX. p. 147.)
- Bertarelli, Experimentelle Untersuchungen und Beobachtungen über die Tollwut. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. p. 399.)
- Frosch, Lyssa. (Handb. d. pathog. Mikroorg. von Kolle-Wassermann. I. Ergänzungsb. p. 626.)
- Galbati, Ueber den Durchtritt des Wutvirus durch intakte Schleimhäute. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. p. 644.)
- Galli-Valerio, Recherches expérimentales sur la rage des rats . . . etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. T. XL. p. 197 u. 318.)
- Konrádi, Ist die Wut vererbbar? (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. p. 60.)
- , Beitrag zur Kenntnis der Symptome und Prophylaxe der experimentellen Lyssa. (Ibid. Bd. XXXIII. p. 389.)
- , Weitere Untersuchungen zur Kenntnis der Symptome und Prophylaxe der experimentellen Lyssa. (Ibid. Bd. XXXVIII. p. 194.)
- , A veszettségéről (Ueber die Wut.) [Ungarisch.] (Erdélyi Múzeum-Egylet nagyenyedi vándorgyűlésének emlékkönyve.)
- Koppitz, Ist die Wut innerhalb des Inkubationsstadiums infektiösfähig? (Berliner tierärztl. Wochenschr. 1906. No. 2. Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XL. p. 134.)
- Loir, La rage dans l'Afrique du Sud. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XVII. p. 298.)
- Löte, Ueber ein Symptom der experimentellen Lyssa. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. p. 32.)
- , A házi nyúl hőmérséki és súlyviszonyairól veszettségoltós után. [Ungarisch.] (Orvosi Hetilap. 1888.)
- Marie, La virulence du sang chez les animaux rabiques. (Ref. Bull. Pasteur. T. III. p. 461.)
- Nicolas, Apparition de la virulence dans la salive mixte des animaux rabiques. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XL. p. 53.)
- Nitsch, Expériences sur la rage de laboratoire (virus fixe). I—V. partie. (Crocovie. 1904—1906.)
- Pace, È possibile l'assorbimento di virus rabico nelle uomo per via nella mucosa nasale. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. p. 375.)
- Pampoukis, Quelques observations sur la rage. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XIV. p. 111.)
- Rabieaux, Contribution à l'étiologie de la rage. (Ref. Baumgartens Jahresberichte. 1904. p. 809.)
- Remlinger, A quel moment le bulbe des lapins rabiques de passages devient-il virulent? (Ref. Baumgartens Jahresberichte. 1905. p. 670.)
- , A quel moment le cerveau des hommes et des animaux mordus par un chien enragé devient-il virulent? (Ref. Ibid. 1905. p. 671.)
- , Travaux récents sur la rage. (Bulletin Pasteur. T. II. p. 753 et 793.)
- Roux et Nocard, A quel moment le virus rabique apparaît-il dans la bave des animaux enragés? (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. IV. p. 163.)
- Zagarrio, Trasmissione della rabbia durante il periodo di incubazione. (Ref. Baumgartens Jahresberichte. 1903. p. 816.)

Nachdruck verboten.

Die Bindungsverhältnisse der Organgewebe gegenüber Toxinen und ihre klinische Bedeutung für Inkubation und natürliche Immunität.

[Aus dem Laboratorium der kgl. med. Universitätspoliklinik Berlin
(Direktor: H. Senator).]

Von Dr. **Alfred Wolff-Eisner**

nach gemeinschaftlich mit Dr. Ludwig Laband angestellten Versuchen.

Mit 2 Figuren.

(Schluß.)

Die durch die vorliegenden Versuche erwiesene Beteiligung aller Organe bei dem Kampf gegen Toxin, das in den Körper gelangt ist, geben das Verständnis für diese bisher unerklärlichen Tatsachen der Immunitätslehre.

Aus dem Vorhergehenden und aus den Protokollen ist die Filterwirkung der Organe deutlich zu erschließen. Es handelt sich jetzt darum, wie man theoretisch — vom Standpunkt der Seitenkettentheorie — die erhaltenen Resultate deuten will. Es gibt hier zwei Möglichkeiten. Man könnte annehmen, daß es sich bei der ganzen kombinierten Filterwirkung, Bindung und Attraktion, um **Rezeptorenphänomene** handelte, d. h. Bindung und Attraktion wären Funktionen von vorhandenen Seitenketten (Rezeptoren), ohne daß die Zelle im Hauptkern sich irgendwie biologisch aktiv an der Giftbindung und Attraktion beteiligte.

Die **natürliche Immunität** ist nach unserer Anschauung ein Phänomen, dessen Grundursache **nicht** in das Serum, also nicht in die Körpersäfte, sondern **in die Organe** verlegt werden muß. Innerhalb dieser cellulären Auffassung bedeutet diese erstere Annahme eine gewisse Anlehnung an die humoralistische Antitoxinlehre, indem die Rezeptoren — statt ins Serum abgestoßen zu werden — mit gleicher Wirkung an den Organen sitzen bleiben.

Die zweite Möglichkeit ist, daß es sich bei der Bindung und Attraktion um eine **vitale Zelltätigkeit** handelt, die zur Abschwächung und Zerstörung des Toxins führt. Diese Anschauung hat manches für sich speziell auch für den Vorgang der Attraktion. Es sprechen für sie in gewissem Sinne folgende von mir erhobene Befunde:

1) Die Rezeptoren werden bei der Autolyse vollkommen vernichtet; Befunde, auf Grund von Untersuchungen, die gemeinsam mit Rosenbaum ausgeführt worden sind.

2) Gehirnpresse-saft (mit der hydraulischen Presse bei 300 Atmosphären hergestellt) bindet nicht Tetanustoxin wie Gehirnbrei. Da hier nun ohne jede chemische Veränderung nur das Leben der Zellen durch Aufhebung der Molekularstruktur vernichtet ist, zeigen diese Versuche, daß bei der Giftbindung der Organe das vitale Moment eine größere Rolle spielt als bei der alkoholischen Gärung durch die Hefe¹⁾.

1) Diese vitale Anschauung über das Bindungsvermögen des Gehirns findet eine Stütze in einigen Angaben von Danyasz (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1889. No. 2). Das Bindungsvermögen ist am größten in einem Medium, das die Gehirnzellen gut konserviert, schlechter in Aqua dest., noch schlechter in 10-proz. Kochsalzlösung. 5-tägige Mazeration läßt eine neutrale Gehirn-Toxinmischung wieder toxisch werden.

Die Feststellungen über Bindung und Attraktion haben Geltung für alle Toxine, da ich außer mit Tetanustoxin noch mit Ricin und Diphtherietoxin entsprechende Versuche angestellt habe. Beim Tetanus ist das ausgesprochene Bindungsvermögen des Zentralnervensystems für das Tetanustoxin geradezu irreführend gewesen, indem man annahm, daß **nur** beim Tetanus das Zentralnervensystem an der Vergiftung beteiligt sei, und übersah, daß bei allen Toxininfektionen der Tod durch die Einwirkung des Toxins auf das Gehirn bedingt sei.

Die vorher mitgeteilten Befunde französischer Autoren über die Wirkung von Viperngift auf Vipern lassen die Vermutung begründet erscheinen, daß beim Schlangengift gleiche Verhältnisse vorliegen. Leider war es mir bisher trotz vielfacher Bemühungen nicht möglich gewesen, mir Schlangengift zu verschaffen.

Ob die gleichen Gesetze über Bindung und Attraktion auch für die Endotoxine gelten, wird sich so lange nicht exakt im Experiment nachweisen lassen, als es nicht gelingt, unveränderliche Endotoxine zu gewinnen, um mit ihnen Bindungsversuche anzustellen. Die Resultate wären, unter den jetzigen Verhältnissen angestellt, bei der großen Labilität der Endotoxine nicht als einwandfrei zu betrachten.

Trotzdem glaube ich, daß für die Endotoxine die gleichen Gesetze Geltung haben. Es geht aus der klinischen Beobachtung hervor, daß auch die Endotoxine durch Gehirnwirkung den Tod herbeiführen. Und daß unter Umständen auch bei wiederholter Zufuhr von Endotoxinen Rezeptoren in den Organen auftreten, ist ein Schluß, dem sich auch Aronson nicht entzieht, der sie — wohl mit Recht — ins Bindegewebe verlegt.

Wie uns das Beispiel des Meerschweinchens beim Tetanus zeigt, ist es beim Fehlen von Rezeptoren in den Organen vollkommen für den Erfolg belanglos, ob man die betreffende Giftdosis subkutan, intravenös, peritoneal oder cerebrally einverleibt. Bei der Zuführung von lebenden oder abgetöteten Endotoxinbildnern bewirkt jedoch die Wahl der Injektionsstelle sehr bedeutende Differenzen¹⁾. Wenn man ferner sieht, daß man subkutan dem wiederholt vorbehandelten Tiere unter anderem ganz kolossale Endotoxinmengen zuführen kann, ohne daß das Tier stirbt und ohne daß das Serum irgendwie erhebliche Antitoxinwirkung entfaltet, so ist der Schluß zwingend, daß in den Organen eventuell auch im Bindegewebe Rezeptoren vorhanden sind (cf. auch die Veröffentlichung Typhus toxin, Typhusantitoxin und Endotoxin, Berl. klin. Wochenschr. 1907).

So sehr ich bei jeder Gelegenheit auch auf die prinzipiellen Differenzen zwischen Toxinen und Endotoxinen hingewiesen habe, so ist doch nicht zu leugnen, daß andererseits wieder zwischen Toxinen und Endotoxinen auch Beziehungen bestehen, die eine gewisse Annäherung beider Begriffe zulassen. Es ist das erstens die Gehirnwirkung beider Giftarten und ferner die Tatsache, daß Endotoxine = Eiweißgifte und echte Toxine das Phänomen der Ueberempfindlichkeit hervorrufen können. Bei der Injektion von Toxinen wird die Ueberempfindlichkeit zwar relativ selten beobachtet, aber sie kommt doch zweifellos vor und umgekehrt kann man unter Umständen auch nach Einverleibung von Endotoxinen eine individuelle Unempfindlichkeit auftreten sehen.

Eine Erklärung für die Hypersensibilität bei Toxinen vermögen auch unsere neuen Beobachtungen nicht zu geben. Nur soviel kann man sagen, daß die Theorie Behrings, nach welcher die Hypersensibilität darauf beruhen soll, daß beim hypersensiblen Tier die Organe ihre

1) Nach eigenen, bisher noch nicht publizierten Versuchen.

Rezeptoren nicht mehr abstoßen, dadurch das Gift an sich ziehen und zur Ueberempfindlichkeit führen, wohl der früheren Version der Seitenkettentheorie zu entsprechen scheint, aber sicher nicht die objektive Wahrheit trifft. Läßt es sich doch direkt nachweisen, daß im Serum der hypersensiblen Tiere Antikörper vorhanden sind. Die Organrezeptoren können sicher nicht das Wesen der Ueberempfindlichkeit ausmachen, denn wir ersehen aus den vorliegenden Untersuchungen, daß die Organrezeptoren die natürliche Immunität bedingen. Wir können nur vermuten, daß bei der Hypersensibilität durch einen uns noch unbekannten Mechanismus die Giftmoleküle direkt an den Ort der Wirkung (Zentralnervensystem) gelangen, da ja selbst für ein unbehandeltes Tier untertödliche Dosen ein hypersensibles Tier zu töten vermögen.

Die gefundenen Tatsachen geben des weiteren noch eine lückenlose Erklärung des **Inkubationphänomens**: Dasselbe ist bisher noch Gegenstand der heftigsten Polemik. Gruber z. B. (Münch. med. Wochenschr. 1903) nimmt an, daß Toxine und Antitoxine schwache Affinität zueinander haben und dissoziierbare Verbindungen in wechselnden Proportionen bilden. Hierdurch soll die Inkubation ihre Erklärung finden. Ehrlich weist diese Annahme zurück. Andere wieder nehmen an, daß die Bindung des Toxins an die Rezeptoren die Inkubationszeit in Anspruch nimmt, aber der Nachweis, daß eingeführtes Toxin oft in wenigen Minuten aus der Blutbahn verschwindet, läßt eine langsame Bindung sehr wenig plausibel erscheinen. Gruber wieder versteht nicht, wieso die toxophoren Gruppen, die sich in Wirkungsnahe zum Protoplasma befinden, so viel Zeit bis zum Ausbruch der Erscheinungen brauchen sollten. Es ist auch schwer verständlich, warum dann größere Dosen die Inkubationszeit so wesentlich abkürzen.

Lingelsheim vertritt die Ansicht, daß das Wesen der Inkubation bisher nicht ergründet sei. Courmont und Doyen (Sem. med. 1897. p. 302 u. 486, Soc. de biol. 1897. p. 716, 781, 1107) sind der Ansicht, daß das Gift die Inkubationszeit durchmachen müsse, um wirksam zu werden. Es ist dies eine Fermenttheorie, die beim Tetanus in gewissem Sinne von Blumenthal wieder aufgenommen worden ist, für die aber keinerlei experimentelle Tatsachen sprechen.

Behring versucht wieder die Inkubation mit dem Dialysiervermögen der Gifte in Verbindung zu setzen. Das Gift braucht Zeit, um aus den Gefäßen zu den Zellen zu dialysieren.

Gegen alle diese Annahmen lassen sich Gründe vorbringen. Ich habe sie auch nur darum angeführt, um zu zeigen, wie wenig Einheitlichkeit in der Auffassung der Inkubation besteht und mich gegen die Behauptung zu verwahren, daß für eine Erklärung der Inkubation kein Bedürfnis vorliege.

Unsere Beobachtungen gestatten eine lückenlose Erklärung der Inkubation. **Die Inkubation ist an die Funktion der Organe geknüpft, welche das Gift von der empfindlichen Stelle, dem Zentralnervensystem, fernhalten.** So lange die Organe hierzu mittelst Bindung und Attraktion im stande sind, dauert die Inkubation, welche aufhört, sowie das Gift nach Passage der Filter an das Zentralnervensystem gelangt. Da die Filterorgane bei den einzelnen Tierspecies verschiedene Qualitäten besitzen, erklärt es sich, wieso die Inkubationszeit bei den einzelnen Tierspecies eine verschiedene ist, ebenso wie die Tatsache, daß intravenöse und intracerebrale Injektion des Giftes die Verhältnisse der Inkubation ändert. Das überzeugendste Beispiel ist die intracerebrale Tetanusinjektion beim Frosch,

bei dem infolge dieser Manipulation an Stelle einer Wochen dauernden Inkubation eine solche von 5 Minuten tritt (cf. die Protokolle, dort auch nähere Ausführungen).

Die folgenden Protokolle enthalten außer den Belegen für unsere Ausführungen noch Versuche zur Bestimmung des Giftwertes des benutzten Tetanustoxins bei verschiedenen Tierspecies und bei verschiedener Applikationsweise (subkutan, peritoneal, intravenös, intracerebral).

Versuchsprotokolle.

Die folgenden Protokolle enthalten Versuche zur Bestimmung des Giftwertes des benutzten Tetanustoxins bei verschiedenen Tierspecies und bei verschiedener Applikationsweise (subkutan, peritoneal, intravenös, intracerebral).

A. Virulenzbestimmung des Tetanustoxins.

Tetanustoxin Aronson.

Meerschw.	65 $\frac{1}{2}$ ccm	= 0,001 g	Toxin subdural	8. Dez.	lebt.	
"	66	0,001 "	" " subkutan	8. "	"	(in 8 Tagen 60 g Abnahme).
"	64	0,002 "	" " "	9. "	"	(in 8 Tagen 25 g Gewichtsabnahme).
Maus		0,0001 "	" " intracraniell	11. "	"	
"		0,01 "	" " subkutan	21. "	"	
"		0,1 "	" " "		†	nach 2 Tagen.
"	12 g	0,001 "	" " "	9. "	lebt.	
"		0,002 "	" " "	9. "	"	
Kaninch.	6a 2100 g	1 "	" " intravenös	9. "	"	(nach 8 Tagen Gewichtsabnahme).
"	1 2200 "	1 "	" " "			Nekrose, nach 14 Tg. † Kachexie, kein Tet.

B. Tetanustoxin Höchst.

Maus 1:	100 000 g	subk.	nach 2 Tagen	†	tetanisch	} Weitere Kontrollversuche ergaben stets das gleiche Resultat, wenn die Lösungen frisch bereitet wurden.
" 1:	500 000 "	"	" 2 "	†	"	
" 1:	1 000 000 "	"	" 2 "	†	"	
" 1:	3 000 000 "	"	"		bleibt frei	
" 1:	4 000 000 "	"	"		"	
" 1:	1 500 000 g	Tetanustoxin	= 0,0000006667 g,	nach 24 Std.		} Der Verlauf gestaltete sich häufig so, daß bei reinen Toxindosen ohne Organe die Tiere nach 24 Std. gesund, resp. leicht paretisch u. nach 48 Std. † tetanisch waren. (cf. Blumenthal, B. kl. th. W., No. 2 ?)
			leichter Tet.,	nach 48, 72, 96, 120 Std.	starker Tet.,	
				144 Std.	† tet.	
Maus 1:	2 000 000 g	Tetanustoxin	= 0,0000005 g,	subk. o. Ersch.		} Bei bacillärer Tetanusinfektion (Erde, Heuinfus) traten oftmals die klonischen Krämpfe völlig in den Hintergrund es bestand tonische Kontraktur und Nachschleppen einer Extremität, selbst nach Erschütterungen etc.
			4 Tage, 7. Tag	Spur von Schleudern	bei Rückenlage,	
			8. Tag Ersch.	geringer, 9. Tag	ohne Ersch.	
Maus 16 g	1:2 000 000 g	Tetanustoxin	subk., 3 Tage	ohne Ersch.	4. Tag Parese	} Prüfungsmeth., Rückenlage, dadurch Auslösung der Krämpfe.
					im linken Hinterbein,	
					5.—7. Tag do.,	
					8.—10. Tag	

Maus	16 g	0,00001	g subkutan	nach 20 Std. deutl. Tetanus, nach 36 Std. †.
"	16 "	0,00003	" "	nach 20 Std. † in tetan. Stellung.
"	16 "	0,0003	" "	} tötet in ca. 36 Std. Sektionsprotokolle s. u.
"	16 "	0,001	" "	
"	16 "	0,01	" "	
"	17 "	0,000001	" "	
"	17 "	0,000001666	" "	nach 24 Std. schwerer Tetanus, nach 72 Std. do., nach 96 Std. †.
"	20 "	0,00000333	" "	nach 24 Std. Parese d. h. Extr., nach 48 Std. Tetanus, nach 72 Std. † tet.
"	20 "	0,00000666	" "	nach 24 Std. tetan., nach 46 Std. schwerer Tet., nach 48 Std. †.
"	20 "	0,0001	" "	nach 24 Std. † tet.
"	20 "	0,00000666	" "	nach 24 Std. tetan., nach 48 Std. † tet.

Tetanus intracerebral.

Maus 15 g 1:10 000 000 Tetanus Höchst in $\frac{1}{10}$ ccm.

Tier 1 4 Tage frei am 5. Tage † tet.

1, 2 bleibt frei

Kaninch.	37A	2600 g	0,05 g Toxin intravenös,	† nach 28 Std. (tetan.?).
"	11A	?	" 0,05 "	nach 24 Std. Spreizung der Beine, Zuckungen, nach 34 Std. † tet. Stellung.
"			0,1 "	nach 3 Std. wohl, nach 19 Std. (morgens) stark tetanisch, nach 20 Std. †.

Meerschw.	200 g	1:1 000 000 = 0,000001	g subkutan	nach 24 Std. leicht. Tetanus, nach 48—72 Std. stärkster Tet., nach 96 Std. sterbend.
"	205 "	1: 600 000 = 0,00001666	" "	nach 50 Std. tet., nach 72 Std., stärkster Tet., nach 96 Std. † (tet.).
"	14a 210 "	1: 150 000 = 0,0000666	" "	nach 24 Std. tet., nach 48 Std. schwerster Tet., nach 52 Std. † (tet.).
"	20a ? "	1: 80 000 = 0,000013	" "	nach 24 Std. tet., nach 48 Std. † (tet.).
"	250 "	1: 10 000 = 0,0001	" "	nach 20 Std. beginnender Tet., nach 24 Std. starker Tet., nach 40 Std. † (tet.).
"	26a 218 "	1: 200 = 0,005	" "	nach ca. 36 Std. † (tet.).

Huhn	0,00005 g Toxin subkutan	} lebt.
"	0,05 " " "	

Frosch	0,00001 "	" "	in den Lymphsack	lebt.
"	0,00005 "	" "	" "	" "
"	0,001 "	" "	" "	" "
"	0,01 "	" "	" "	nach 48 Std. sarker Tetanus, nach 72 Std. do., nach 120 Std., † (tet.).

Protokolle zu den Versuchen über Giftbindung und Attraktion im lebenden Tier. Zusammenfassung.

Serie A.I. Es werden Kaninchen verschieden große Giftmengen, 0,01—0,1 g Tetanustoxin, intravenös injiziert. Die Organe werden 3 Stunden nach der Injektion resp. post mortem Tieren injiziert. Das Gift findet sich konstant in Milz und Leber, vereinzelt in Serum und Niere. Das Gehirn ist frei von Gift.

Serie A.II zeigt in Auswaschungsversuchen das Gift ebenfalls in Leber, Niere, Milz. Auch bei den Auswaschungsversuchen läßt sich nur 1mal unter 4 Versuchen im Gehirn Tetanustoxin nachweisen, trotz der Angabe von Besredka, daß nichttoxisches Gehirn durch Auswaschen toxisch wird. Es wäre demnach unter 4 Versuchen nur 1mal latentes, gebundenes Gift im Gehirn vorhanden gewesen.

Serie B. Die Organe vom Huhn werden 3 Stunden bis 8 Tage nach der Injektion auf das Vorhandensein von Tetanustoxin untersucht. Es findet sich in allen Organen, außer im Gehirn. (Befund analog mit Asakawa.)

Serie C. Dieselben Versuche an Fröschen. Es findet sich das Gift in Niere und Leber; nur bei ganz kolossalen Dosen ist es in allen Organen, auch im Gehirn nachzuweisen.

	Nach	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14	23 Tagen
Maus 18 g Niere	a.	ohne Erscheinungen											
" 16 "	b.	" "	" "										
" 16 " Leber	a.	o. Ersch.	tet.	† tet.									
" 15 "	b.	o. Ersch.	leichter starbend										
			Paras d.	tet. †									
			h. Extr.										
" 19 " Lunge	a.	o. Ersch.	do.	leicht tet.	Paraseder tet.								
				h. Extr.									
" 17 " "	b.	ohne Erscheinungen											

Versuch III. 0,05 g Tetanustoxin Kaninchen intravenös (stirbt nach 34 Stunden). a. Organe nach 3 Stunden, b. post mortem je 1/4, ocm.

	Nach	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	14	22. Tage leicht tet.	31. Tage Spur Parese
Maus 18 g Serum	a.	o. Ersch.	leicht. Nachschleppen des Hinterfußes	oh. Ersch.										
			18 g											
" 13 " Erythrocyten	a.	ohne Ersch.	16 g											
" 15 " Lymphdrüse	a.	" "	18 "											
" 15 " "	b.	" "	16 "											
" 15 " Knochenmark	a.	o. Ersch.	mittelst. tet.	stark. tet.	† tet.									
			14 g											
" 14 " "	b.	o. Ersch.	Paras d. l.	o. Ersch.										
			Extr. 12 g											
" 15 " Milz	a.	o. Ersch.	stark tet.	† tet.										
			16 1/2 g											
" 15 " "	b.	ohne Ersch.		leicht. Tet.	† (tet.)									
" 13 " Niere	a.	o. Ersch.	stark tet. 15 g	†										
			sterbend											
" 15 " "	b.	ohne Erscheinungen												
" 15 " Leber	a.	o. Ersch.	stark tet.	† tet.										
" 15 " "	b.	ohne Erscheinungen												

	Nach	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	etc.	Tagen
Maus 14 g	Gehirn	a.	ohne Erscheinungen																
" 14 "	"	b.	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
" 14 "	Muskel	a.	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
" 14 "	"	b.	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"

† nach 30 Tagen, Ursache?

Versuch IV. 0,1 cem Tetanus Höchst Kaninchen intravenös. cf. Sektion. a. Organe je $\frac{1}{4}$ cem, b. post mortem d. in 20 Stunden nach Toxininjektion.

	Nach	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	u. s. w.	Tagen
Maus 16 g	Serum																	
" 18 "	Erythrocyten																	
" 20 "	Lymphdrüse	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.
" 20 "	Milz	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.
" 20 "	Niere	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.	keine Ersch.
" 20 "	Leber ¹⁾	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf	klon. Krampf
" 15 "	Gehirn	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.	der h. Extr.
" 15 "	Lunge	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen	ohne Erscheinungen

1) Die Leber dieses Tieres 3mal ausgewaschen mit phys. NaCl-Lösung, nach 1 Tage keine Erscheinungen, nach 3 Tagen + tetanisch (also geringere Giftigkeit).

A II. Auswaschungsversuche.

Organe von Kaninchen, welche 0,03 resp. 0,01 g Tetanustoxin intravenös erhalten haben, (A. nach 3 und nach 24 Stunden getötet, B. post mortem), 5mal mit physiol. Kochsalzlösung gewaschen und $\frac{1}{4}$ ccm des Organs Mäusen subkutan injiziert.

I. 0,01 Tetanustoxin (Kaninchen nach 3 Stunden getötet).

Maus 15 g A. $\frac{1}{4}$ ccm Gehirn † tet.

II. 0,03 Tetanustoxin (Kan. nach 3 Stunden getötet).

Maus	Gewicht	Behandlung	Ergebnis	1	2	3	4
15 g	A. $\frac{1}{4}$ ccm	Gehirn	ohne Erscheinungen				
15 "	B. $\frac{1}{4}$ "	"	"(Wiederholung)"				
15 "	A. $\frac{1}{4}$ "	"	ohne Erscheinungen (nach 20 Tagen Nekrose)				
17 "	$\frac{1}{4}$ "	Leber	frei	frei	leicht tet.	schwer tet.	† tet.
17 "	$\frac{1}{4}$ "	Milz	frei	frei	leicht tet.	schwer tet.	† tet.
15 "	$\frac{1}{4}$ "	Niere	frei	frei	tet.	† tet.	
15 "	$\frac{1}{4}$ "	Muskel	bleibt frei	bleibt frei			
16 "	$\frac{1}{4}$ "	Erythrocyten	" "	" "			

III. 0,03 Tetanustoxin intravenös nach 24 Stunden 5mal zentrifugiert.

Maus	Gewicht	Behandlung	1	2	3	4	5	6	7
15 g	$\frac{1}{4}$ ccm	Gehirn	bleibt frei						
15 "	$\frac{1}{4}$ "	Leber	schwach		tet.	† tet.			
		Milz							
15 "	$\frac{1}{4}$ "	Niere	frei	stark tet.	sterbend	† tet.			
15 "	$\frac{1}{4}$ "	Muskel	bleibt frei						
15 "	$\frac{1}{4}$ "	Erythrocyten	"	"					

Versuchsprotokolle zu den Versuchen über das Bindungsvermögen der einzelnen Organe gegenüber Tetanustoxin.

(p. 222 u. 223.)

Serie A. Beim Kaninchen sind Serum und Erythrocyten ohne Bindungsvermögen, Knochen, Muskel, Milz, Niere, Lymphdrüse ohne stärkeres Bindungsvermögen, nur Gehirn hat Bindungsvermögen.

Serie B. Beim Meerschweinchen haben die Organe, außer Gehirn, kein Bindungsvermögen. Nur Erythrocyten und Muskeln binden in vereinzelt Versuchen schwach.

Serie C. Organe vom Huhn: Milz, Niere, Leber und Gehirn, Erythrocyten und Serum haben ein außerordentlich starkes Bindungsvermögen ($\frac{1}{4}$ ccm des Organs bindet bis zu der 8-fachen Dosis letalis). Im Gegensatz hierzu steht die Angabe von Metschnikoff, daß Hühnhirn schwaches Bindungsvermögen besitzt.

Serie D. Beim Frosch hat das Gesamtblut, Milz, Niere, ein hohes Bindungsvermögen, in geringerem Grade der Muskel. Der Leber scheint kein Bindungsvermögen zuzukommen. Nach Courmont und Doyon (Soc. de biol. 1898) hat auch das Gehirn des erwärmten Frosches keine Bindekraft.

Protokolle zu den Versuchen über das Bindungsvermögen der einzelnen Organe gegenüber Tetanustoxin.

(p. 224—228.)

Serie A. Beim Kaninchen sind Serum und Erythrocyten ohne Bindungsvermögen. Knochen, Milz, Niere, Lymphdrüse ohne stärkeres Bindungsvermögen. Nur Gehirn hat stärkeres Bindungsvermögen.

Serie B. Beim Meerschweinchen haben die Organe, außer Gehirn, kein Bindungsvermögen. Nur Erythrocyten und Muskeln binden in vereinzelt Versuchen schwach.

Serie C. Organe vom Huhn: Milz, Niere, Leber und Gehirn, Erythrocyten und Serum haben ein außerordentlich starkes Bindungsvermögen ($\frac{1}{4}$ ccm des Organs bindet bis zu der 8-fachen Dosis letalis).

Serie D. Beim Frosch hat das Gesamtblut, Milz, Niere ein hohes Bindungsvermögen, in geringerem Grade der Muskel. Der Leber scheint kein Bindungsvermögen zuzukommen.

B. Versuche über natürliche antitoxische Immunität.

Einem Huhn werden 0,05 g in 5 ccm intravenös injiziert, und von den Organen je $\frac{1}{4}$ ccm nach 3 Stunden Mäusen subkutan injiziert.

Erscheinungen nach	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 u. s. w. 21 Tagen
Maus 18 " Organ Serum	† tet.										
" 18 " Erythrocyten	† tet.?										
" 20 " (zentrif. u. gew. 3mal)	tet.	sterbend, tet. †									
" 22 " Milz		† tet.									
" 22 " Niere	paret., leicht tet.										
" 18 " Gehirn	frei										
" 25 " Leber	"										
					suspekt	paret.	tet.	paret.	suspekt	frei	

Huhn 0,05 intravenös nach 2 Tagen, Mäusen je $\frac{1}{4}$ ccm der Organe subkutan injiziert.

Maus 17 g Serum	schwer tet.	† tet.									
" 16 " Erythrocyten	† tet.										
" 16 " Milz	frei	tet.	† tet.								
" 16 " Niere	leicht tet.	tet.	† tet.								
" 17 " Leber	tet.	† tet.									
" 15 " Muskel			bleibt frei		tet.	† tet.					
" 15 " Gehirn		"	"								

Huhn 0,05 subkutan nach 8 Tagen, Mäusen je $\frac{1}{4}$ ccm der Organe subkutan injiziert.

Erscheinungen nach	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 u. s. w. 7 Tagen
Maus 14 g Organ Erythrocyten	tet.	† tet.									
" 16 " Milz	frei	† tet.									
" 15 " Niere	† tet.	† tet.	† tet.								
" 15 " Leber	kontrakt.	tet.	† tet.								
" 14 " Muskel	† tet.	† tet.	† tet.								
" 14 " Gehirn	bleibt frei										

C. 3 Fröschen werden abgestufte Mengen (je 0,0005 g und 0,01 g) in den Lymphsack gespritzt und a. nach 3 Stunden resp. b. nach 48 Stunden a: Mäusen subkutan injiziert. 0,0005 g Toxin.

		Erscheinungen nach														
Reihe		Organ	Menge													
a.		Blut	1/4 ccm	ohne Erscheinungen							paret.	tet.			stark tet.	
b.		Blut	1/4 "	"	"	"	"	"	"	"		"	tet.			
15 "	a.	Milz	3 Milzen	"	"	"	"	mager und schwach							+	nicht tet.
16 "	b.	Milz	3 "	"	"	"	"	mager und schwach								
15 "	a.	Nieren	4 Nieren	o. Ersch. o. Ersch.		suspekt	+	tet.								
15 "	b.	Nieren	4 "	o. Ersch. o. Ersch.												
15 "	a.	Leber	1/4 ccm	ohne Ersch.		"	"	"	"	"	"	"	"	"		
15 "	b.	Leber	1/4 "	ohne Ersch.												
15 "	a.	Gehirn	3 Gehirne	ohne Erscheinungen		"	"	"	"	"	"	"	"	"		
15 "	b.	Gehirn	3 Gehirne	ohne Erscheinungen												

b: Nach 0,01 g Tetanustoxin (cf. oben):

Maus	Reihe	Organ	Erscheinungen nach
16 g	a.	Blut	1/4 ccm o. Ersch. + tet.
" 16 "	a.	Milz	3 Milzen " " + "
" 16 "	a.	Niere	1/4 ccm " " + "
" 16 "	a.	Leber	1/4 " " " + "
" 17 "	a.	Gehirn	1/4 " " " + "

2 Frösche, erst in 8 Tagen Abstand, 2mal je 0,0005 g Tetanustoxin dann 5 ccm einer Lösung 1:100 = 0,05 g Toxin in den Lymphsack.

Maus	Reihe	Organ	Erscheinungen nach
17 g	a.	Blut	1/2 ccm + tet.
" 22 "	a.	Milz	3 Milzen leicht tet. + tet.
" 18 "	a.	Niere	3 Nieren + tet.
" 24 "	a.	Leber	1/2 ccm schwer tet. + "
" 17 "	a.	Gehirn	3 Gehirne tet. + "

A. Organe von normalem Kaninchen + Tetanustoxin Höchst

in sich abstuften Dosen Mäusen subkutan nach 3-stünd. Mischung bei Zimmertemperatur injiziert.

Serum:

Maus 19	g $\frac{1}{4}$ ccm Serum + 0,00000167 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm Lösung 1:150 000)	nach 2 Tagen + tetanisch
" 13 $\frac{1}{2}$	" $\frac{1}{4}$ " " + 0,0000312 " " ($\frac{1}{4}$ " " 1: 80 000)	" 2 " + (tet.)
" 15	" $\frac{1}{4}$ " " + 0,000005 " " ($\frac{1}{4}$ " " 1: 50 000)	" 2 " + (tet.)
" 22	" $\frac{1}{4}$ " " + 0,00005 " " ($\frac{1}{2}$ " " 1: 50 000)	" 20 Std. schwerster Tet., nach 28 Std. + (tet.)

Erythrocyten, mehrmals in phys. NaCl-Lösung gewaschen und zentrifugiert:

Maus 17	g $\frac{1}{4}$ ccm Erythrocyten + 0,0000312 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm Lösung 1: 80 000)	nach 2 Tagen sterbend tetanisch (+)
" 14	" $\frac{1}{4}$ " " + 0,000005 " " ($\frac{1}{4}$ " " 1: 50 000)	" 1 Tag ohne Ersch., nach 2 Tagen + tet.
" 20	" $\frac{1}{4}$ " " + 0,00001248 " " ($\frac{1}{4}$ " " 1: 20 000)	" 20 Std. + tet.

Milz:

Maus 14	g $\frac{1}{4}$ ccm Milz + 0,000005 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm Lösung 1: 50 000)	bis 48 Std., ohne Erscheinungen, nach 72 Std. tet., nach 96 Std. + tet.
" 17	g $\frac{1}{4}$ " " + 0,00000166 g " ($\frac{1}{4}$ " " 1: 150 000)	nach 48 Std. verächtlich, nach 72 Std. tet., nach 96 Std. sterbend, nach 120 Std. +.

Lymphdrüse:

Maus 15	g $\frac{1}{4}$ ccm Lymphdrüse + 0,000005 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm Lösung 1: 50 000)	nach 48 Std. leichter Tet., nach 72 Std. + (tet.)
" 16	" $\frac{1}{4}$ " " + 0,0000312 " " ($\frac{1}{4}$ " " 1: 80 000)	nach 24 Std. ohne Ersch., nach 48 Std. tet., nach 72 Std. + tet.
" 17	" $\frac{1}{4}$ " " + 0,00000166 " " ($\frac{1}{4}$ " " 1: 150 000)	nach 48 Std. tet., nach 72 Std. sterbend, nach 96 Std. +.

Knochenmark:

Maus 17	g $\frac{1}{4}$ ccm Knochenmark + 0,00000166 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm Lösung 1:150 000)	nach 48 Std. leicht tet., nach 72 Std. + tet.
" 14	" $\frac{1}{4}$ " " + 0,0000312 " " ($\frac{1}{4}$ " " 1: 80 000)	nach 48 Std. sterbend tet., nach 72 Std. + (tet.)
" 13 $\frac{1}{2}$	" $\frac{1}{4}$ " " + 0,000005 " " ($\frac{1}{4}$ " " 1: 50 000)	nach 48 Std. tet., nach 72 + (tet.)
" 20	" $\frac{1}{4}$ " " + 0,000012 " " ($\frac{1}{4}$ " " 1: 20 000)	nach 24 Std. bei Erschütterung beginnender Tet., nach 48 Std. + tet.

Muskel:

Maus 17	g $\frac{1}{4}$ ccm Muskel + $\frac{1}{4}$ ccm Lösung 1:300 000	nach 24 Std. suspekt, nach 48 Std. leicht tet., nach 72 Std. schwer tet., nach 96 Std. + tet.
" 16	" $\frac{1}{4}$ " " + $\frac{1}{4}$ " " 1:150 000	nach 24 Std. tet. +
" 16	" $\frac{1}{4}$ " " + $\frac{1}{4}$ " " 1: 80 000	nach 24 Std. leicht tet., nach 48 Std. tet., nach 72 Std. schwer tet., nach 96 Std. + tet.

Niere:

Maus 17	g $\frac{1}{4}$ ccm Niere + 0,00000167 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm 1:150 000)	nach 48 Std. ziemlich stark tet., nach 72 Std. sterbend tetanisch, nach 96 Std. + tet.
" 14	" $\frac{1}{4}$ " " + 0,0000312 " " ($\frac{1}{4}$ " 1: 80 000)	nach 48 Std. + tet.
" 14	" $\frac{1}{4}$ " " + 0,000005 " " ($\frac{1}{4}$ " 1: 50 000)	nach 48 Std. + tet.
" 21	" $\frac{1}{4}$ " " + 0,00001248 " " ($\frac{1}{4}$ " 1: 20 000)	nach 24 Std. beginnender Tetanus, nach 48 Std. + tet.

Leber:		Nach 24	48	72	96	120	144 Stunden
Maus 15	g $\frac{1}{4}$ ccm Leber + 0,0000312 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm Lös. 1:320 000)	o. Errech.	+ tet.				
"	15 " $\frac{1}{4}$ " + $\frac{1}{4}$ ccm Lös. 1:300 000	frei		tet.	+ tet.		
"	18 " $\frac{1}{4}$ " + $\frac{1}{4}$ ccm Lös. 1:150 000	frei	suspekt	schwer tet.	+ tet.		
"	15 " $\frac{1}{4}$ " + 0,0000167 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm Lös. 1:150 000)		frei	leichte Parese	tet.	tet.	+ tet.
"	15 " $\frac{1}{4}$ " + $\frac{1}{4}$ ccm Lös. 1:80 000	frei	suspekt	+ tet.			
"	14 " $\frac{1}{4}$ " + 0,000005 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm Lös. 1:50 000)	o. Errech.	tet.	?	?	?	
"	19 $\frac{1}{8}$ " $\frac{1}{4}$ " + 0,00001248 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm Lös. 1:20 000)	"	+ tet.				
Beim Gehirn wurde nach Marx (siehe dort) kein Kochsalzzusatz angewandt, da nach Besredka nicht toxisches Gehirn durch Auswaschen toxisch wird.							
Maus 17	g $\frac{1}{4}$ ccm Gehirnemulsion + 0,00000167 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm Lös. 1:150 000)	Nach 24	bleibt frei.	48	72	97	120 Stunden
"	15 " $\frac{1}{4}$ " + 0,00000312 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm Lös. 1:80 000)	"	"	"	"	"	"
"	15 " $\frac{1}{4}$ " + 0,000005 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm Lös. 1:50 000)	ohne Erscheinungen		leichter Tet.			+ tet.
"	20 " $\frac{1}{4}$ " + 0,00001248 g Tetanustoxin ($\frac{1}{4}$ ccm Lös. 1:20 000)	"	o. Errech.	+ tet.			

B. Organe von normalen Meerschweinchen + Tetanustoxin im steigenden Dosen
 1 ccm versetzt mit 1 ccm Tetanustoxinlösung, davon nach 3 Stunden $\frac{1}{4}$ ccm subkutan.

Maus	17 g $\frac{1}{4}$ ccm Milz	+ $\frac{1}{4}$ ccm Tetanustoxinlös.	Nach 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10 Tg.
				tet.	† tet.							
"	19 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	"	†	"						
"	16 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	"	†	"						
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	† tet.	"	"						
"	16 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	leicht tet.	†	"						
"	20 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	"	†	"						
"	20 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	schwer tet.	†	"						
"	1) 18 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	frei	frei	schwach	† nicht tetanisch					
"	2) 15 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	frei	† (?)							
"	1) 18 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	bleibt frei	frei	schwach					suspekt	† ?
"	2) 15 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	frei	frei							
"	1) 19 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	7. Tag frei, 9. Tag l. Tet., 10. Tag Parese, dann frei	frei						schwach paretisch	schwache Kontraktur
"	2) 18 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	frei	frei							
"	16 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	frei	frei	suspekt schwach tet. do.	10-17 Tag. paret.					
"	3mal gewasch.	+ $\frac{1}{4}$ "	"	leicht tet., dann frei, nach 24 Tag. ohne Tetanus.	† tet.							
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	frei	frei	suspekt	schwach tet.				tet.	
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	bleibt frei	frei						[nach 12 Tag. +	
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	frei	susp. paret.						stark tet.	[nach 13 Tag. +
Wiederholung:												
Maus	20 g $\frac{1}{4}$ ccm Muskel	+ $\frac{1}{4}$ ccm Tetanustoxinlös.	1:300 000	frei	susp. leicht tet.	nach 7-15 Tag. schwer tet., 16-18 Tag. leicht tet. Nekrose, 29-32 Tag. frei Nekrose, † o. Tet.						
"	17 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	frei l. tet.	stark tet.	† tet.						
"	19 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	"	"	† tet.						

C. Versuche über natürliche antitoxische Immunität.

Organe vom normalen Huhn werden mit abgestuften Mengen von Tetanustoxin (0,00025 g, 0,0001 g, 0,001 g Tetanustoxin) versetzt und 3 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und Mäusen subkutan injiziert je $\frac{1}{4}$ ccm.

		Nach 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 Tag.																	
Maus	16 g $\frac{1}{4}$ ccm Milz	+ $\frac{1}{4}$ ccm Tetanustoxin 1:300 000	frei	stark tet.	† tet.														
"	21 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ "	"	"	"	storb. tet.	† tet.												
"	18 " $\frac{1}{4}$ "	+ $\frac{1}{4}$ ccm Lösung	1: 80 000	bleibt 11 Tage frei, 12. Tag pareh. † (?)															
"	18 " $\frac{1}{4}$ "	+ 0,0000624 g Tetanustoxin	o. Ersch. schw. tet.	† tet.															
"	18 " $\frac{1}{4}$ "	+ 0,000025 g Tetanustoxin	($\frac{1}{4}$ ccm Lösung 1:40 000)	leicht tet.	† tet.														
"	18 " $\frac{1}{4}$ "	+ 0,00025 g Tetanustoxin	($\frac{1}{4}$ ccm Lösung 1:10 000)	schw. tet.	†														
"	18 " $\frac{1}{4}$ "	+ 0,00025 g Tetanustoxin	($\frac{1}{4}$ ccm Lösung 1:1 000)	frei	leicht tet.	stark tet.	storb. tet.	† tet.											
"	16 " $\frac{1}{4}$ "	Muskel + $\frac{1}{4}$ "	"	frei	frei	stark	sterbend tet.	†											
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	frei	frei														
"	18 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	bleibt frei															
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	Niere + $\frac{1}{4}$ ccm Lösung	1:300 000	15 Tage frei, abgemagert, † ?															
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:150 000	bleibt frei														
"	16 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:80 000	11 Tage frei, dann †, aufgefressen (Nekrose)!														
"	19 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:40 000	o. Ersch. sterb. tet. † (2. Tag)														
"	18 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:10 000	sterb. tet. † (1. Tag)														
"	18 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:1 000	† tet. (1. Tag)														
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	Leber + $\frac{1}{4}$ "	1:300 000	bleibt frei															
"	16 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:150 000	"														
"	19 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:80 000	"														
"	20 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:40 000	leicht tet.	† tet.													
"	18 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:10 000	tet.	†													
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:1 000	schw. tet.	†													
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:1 000	schw. tet.	†													
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	Gehirn + $\frac{1}{4}$ "	1:150 000	bleibt 15 Tage frei, † (kein Tetanus)															
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:80 000	frei														
"	18 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:40 000	frei	suspekt	leicht tet.	paretisch	tetanisch	† tet.									
"	16 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:10 000	ohne Erscheinungen														
"	16 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:1 000	1. Tag o. Ersch. 2. Tag sterb. tet.														
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	Erythr. + $\frac{1}{4}$ "	"	1:300 000	bleibt frei														
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:150 000		bleibt frei	8 Tage												
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:50 000	bleibt frei														
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	Serum + $\frac{1}{4}$ "	"	1:80 000		bleibt frei	8 Tage												
"	15 " $\frac{1}{4}$ "	" + $\frac{1}{4}$ "	"	1:80 000		bleibt frei	8 Tage												

D. Normale Frosehorgane + Tetanustoxin.

Es werden Organe von 3 Fröschen zerkleinert und mit abgestuften Dosen Tetanustoxin versetzt, 3 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und Mäusen je $\frac{1}{4}$ ccm subkutan injiziert.

Nach 1		2	3	4	5	6	7 Tagen
Maus	15 g $\frac{1}{4}$ ccm Blut	+ $\frac{1}{4}$ ccm Lös.	1:300 000	bleibt frei			
"	"	Erythr. + Serum					
"	15 " $\frac{1}{4}$ ccm do.	+ $\frac{1}{4}$ "	1:150 000	"			
"	15 " $\frac{1}{4}$ " do.	+ $\frac{1}{4}$ "	1:80 000	"			
"	15 " $\frac{1}{4}$ " Erythr.	+ $\frac{1}{4}$ "	1:80 000	leicht tet. sterb. tet.	† tet.		
"	16 "	3 Milzen	+ $\frac{1}{4}$ "	frei	schwach tet.	stark tetanisch	
"	15 "	3 "	+ $\frac{1}{4}$ "	10 Tage frei, 11. Tag	† tet.	[schwächer tet., 13. Tag frei]	
"	15 "	Niere	+ $\frac{1}{4}$ "	bleibt frei			
"	15 "	"	+ $\frac{1}{4}$ "	"			
"	15 "	"	+ $\frac{1}{4}$ "	"			
"	20 "	Leber	+ $\frac{1}{4}$ "	frei	tet.	† tet.	
"	15 "	"	+ $\frac{1}{4}$ "	frei	sterb. tet.	† tet.	
"	15 "	"	+ $\frac{1}{4}$ "	frei	† tet.		
"	15 "	"	+ $\frac{1}{4}$ "	"	leicht tet.	† tet.	
"	15 "	"	+ $\frac{1}{4}$ "	bleibt frei			
"	15 "	Gehirn	+ $\frac{1}{4}$ "	"	(stirbt nach 30 Tagen nicht tetanisch)		
"	15 "	"	+ $\frac{1}{4}$ "	frei	tet.	† tet.	
"	16 " $\frac{1}{4}$ " Muskel	+ $\frac{1}{4}$ "	1:300 000	frei? leicht tet.	stark tet.	† tet.	
"	17 " $\frac{1}{4}$ "	"	+ $\frac{1}{4}$ "	leicht tet. schwer tet.	† tet.		
"	19 " $\frac{1}{4}$ "	"	+ $\frac{1}{4}$ "				

Protokolle über das Attraktionsvermögen von Organen bei mehrmaliger Waschung.

(p. 230 u. 231.)

Indem die Organe mit größeren Mengen sehr verdünnter Toxinlösungen angestellt, dann mehrfach gewaschen und zentrifugiert wurden, bekam man eine sehr klare Vorstellung über das Attraktionsvermögen. Es geht aus den Versuchen zur Evidenz hervor, daß bei der Mehrzahl der Organe das Attraktionsvermögen viel größer noch, als das Bindungsvermögen ist. Wenn in den Organen nicht eine besondere Attraktionskraft vorhanden wäre, könnte das Organ nach den verschiedenen Waschungen nicht mehr die Dosis letalis enthalten.

Serie A. Sämtliche Kaninchenorgane haben ein starkes Attraktionsvermögen, nur beim Gehirn überwiegt das Bindungsvermögen über eine ev. vorhandene Attraktion, sie vollkommen verdeckend.

Serie B. Die Organe des Meerschweinchens, außer Muskel und Gehirn zeigen nur eine schwache Attraktionskraft.

Serie C. Bei der Maus zeigen Niere und Muskel Attraktionsvermögen, Leber und Gehirn kein Attraktionsvermögen.

Serie D. Beim Frosch zeigt Milz und Gehirn ein geringes Attraktionsvermögen. (cf. Bindungsversuch beim Frosch.)

met. Serie E. Beim Huhn zeigt Leber ein starkes Attraktionsvermögen. (Versuche mit anderen Organen sind hier nicht angestellt.)

Protokolle zu den Versuchen mit intracerebraler Giftinjektion.

Die Versuche, Serie A ergeben, daß bei Mäusen, bei denen $\frac{1}{1,000,000}$ g Toxin subkutan Tetanus auslöst, bei cerebraler Giftzufuhr $\frac{1}{1,000,000}$ g die Grenze bildet, während $\frac{1}{5,000,000}$ g sicher Tetanus auslöst.

Serie B zeigt die Erscheinungen bei intracerebraler Giftzufuhr bei Fröschen. Es gelingt, mit relativ kleinen Dosen fast augenblicklich, auch bei der Temperatur des Eisschranks, Tetanus zu erzeugen. Die Annahme, daß bei niedriger Temperatur das Gehirn des Frosches Tetanustoxin nicht bindet, ist also unrichtig. Es bestehen bei intracerebraler Injektion einige klinische Abweichungen: unter Umständen verschwinden die tetanischen Erscheinungen wieder und kommen nach einigen Tagen erneut wieder zum Ausbruch.

Serie C zeigt — selbst bei Injektion viel größerer Dosen 0,01 g in den Lymphsack — den von der cerebralen Injektion völlig abweichenden klinischen Verlauf: Inkubationsdauer 20 Tage etc.

A. Intracerebrale Giftinjektion in $\frac{1}{10}$ ccm bei Maus und Huhn.

	Nach 1	2	3	4	5	6	7 Tag.
Maus 15 g $\frac{1}{1,000,000}$ g Tetanustoxin susp.	starke Parese						
	u. Tet., Sprei-						
	zung der						
	Hinterbeine						
	†						
Maus 15 g $\frac{1}{5,000,000}$ g Tetanustoxin	frei			stärkste			
				Pareseinten-			
				sivster, aber			
				wenig			
				extens. Tet.			
				†			
Maus 15 g $\frac{1}{1,000,000}$ g Tetanustoxin			frei				† tet.
„ 15 „ $\frac{1}{1,000,000}$ „ „	bleibt frei						
Huhn $\frac{1}{1,000,000}$ „ „	„	„					

B. Intracerebrale Injektion (Frösche).

$\frac{1}{10}$ ccm einer phys. Kochsalzlösung intracerebral rief bei 5 Fröschen keinerlei Erscheinungen hervor, sie lebten nach 6 Wochen völlig gesund.

$\frac{1}{10}$ ccm einer Tetanustoxinlösung 1:100 intracerebral injiziert:

Nach 5 Minuten liegt der Frosch auf dem Bauch, streckt die Beine von sich, reagiert auf Reize nicht durch Fortspringen. Nach 7 Minuten beginnen tonische Krämpfe, durch Klopfen auslösbar; dabei werden die abduzierten Extremitäten adduziert. Bei den Krämpfen verstärkt sich der an sich schon starke Opistotonus, die Extremitäten werden dorsal erhoben.

Ein bei Eisschrantemperatur gehaltener Frosch wird fast augenblicklich nach intracerebraler Injektion von 0,002 g Tetanustoxin tetanisch; die Starre geht ziemlich

A. Attraktionsversuche.

Normale Organe von Kaninchen, 3 Stunden lang versetzt mit einer wechselnden Dosis einer Tetanustoxinlösung (mehrfach geschüttelt), von der die nach früheren Versuchen (cf. Protokolle) nur wenig bindenden Organe ev. das Gift attrahieren konnten, dann wurde 5mal mit phys. NaCl-Lösung ausgewaschen, um das nicht attrahierte Gift zu entfernen.

Organ	Versetzt mit	Davon injiziert	Nach 24	48	72	96	120	144	172	196 Std.
Maus 13 g $\frac{2}{3}$ ccm Lymphdr.	5 ccm Lös. 1:50 000 = 0,0001 g Tet.-T.	$\frac{1}{2}$ ccm	o. Ersch.	schwer tet.	sterbend +					
" 17 " 3 "	10 ccm Lös. 1:500 000 = 0,00002 g Tet.-T.	$\frac{1}{2}$ "	"	"	auspekt leicht tet.	tetanisch	stark tet.	+	tet.	
" 15 " 2 " Knochenm.	5 ccm Lös. 1:50 000 = 0,00002 g Tet.-T.	$\frac{1}{2}$ "	"	"	+	tet.				
" 17 " 3 "	10 ccm Lös. 1:500 000 = 0,00002 g Tet.-T.	$\frac{1}{2}$ "	"	"	auspekt	tetanisch				+
" 14 " 2 " Niere	5 ccm Lös. 1:50 000 = 0,0001 g Tet.-T.	$\frac{1}{2}$ "	"	"	+	tet.				
" 15 " 3 "	10 ccm Lös. 1:500 000 = 0,00002 g Tet.-T.	$\frac{1}{2}$ "	ohne Ersch.	Parese	tet.	sterbend tet.	+			
" 13 " 2 " Leber	5 ccm Lös. 1:50 000 = 0,00002 g Tet.-T.	$\frac{1}{2}$ "	o. Ersch.	+	tet.					
" 17 " 3 "	10 ccm Lös. 1:500 000 = 0,00002 g Tet.-T.	$\frac{1}{2}$ "	ohne Ersch.	ohne Ersch.	Parese d. l.h. Extr.	frei	Parese d. l.h. Extr. l. Tet.	leichter Tet.	+	tet.
" 14 " 2 " Gehirn	5 ccm Lös. 1:50 000 = 0,0001 g Tet.-T.	$\frac{1}{2}$ "	ohne Ersch.	ohne Ersch.	tetanisch	+	tet.			
" 3 " 3 "	3 ccm Lös. 1:500 000 = 0,00002 g Tet.-T.	$\frac{1}{2}$ "	ohne Erscheinungen							

B. Attraktionsversuche mit Meereshelminthenorganen.

1 ccm des normalen Organs wird mit 10 ccm einer Tetanustoxinlösung 1:1 000 000 versetzt, nach 3 Stunden 5mal zentrifugiert und $\frac{1}{4}$ ccm Rückstand Mäusen subkutan injiziert.

Maus	17 g $\frac{1}{4}$ ccm Leber	Nach	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11-14	15 Tage
"	17 " $\frac{1}{4}$ " Milz	frei	frei	suspekt	frei	frei	frei	frei	stark tet.	† tet.				
"	16 " $\frac{1}{4}$ " Niere	frei	frei	suspekt	frei	frei	frei	frei	suspekt	leicht tet.	schwächer tet.			frei
"	16 " $\frac{1}{4}$ " Gehirn	16 Tage frei, am 18. Tage † (nicht tet.)												
"	15 " $\frac{1}{4}$ " Muskel	bleibt frei												

C. Attraktionsversuche mit Mäuseorganen.

1 ccm resp. mehrere normale Organe werden mit 10 ccm einer Tetanustoxinlösung 1:1 000 000 versetzt, nach 3-stünd. Stehen 5mal zentrifugiert und Mäusen subkutan $\frac{1}{4}$ ccm Rückstand injiziert.

Maus	18 g $\frac{1}{4}$ ccm Leber	Nach	1	2	3 Tage
"	15 " $\frac{1}{4}$ " Niere	bleibt frei			
"	18 " $\frac{1}{4}$ " Gehirn	stark tet.	† tet.		
"	17 " $\frac{1}{4}$ " Muskel	bleibt frei			
"	17 " $\frac{1}{4}$ " Muskel	suspekt	† tet.		

D. Attraktionsversuche (Frosch). (1:300 000, 1:150 000, 1:80 000.)

Normale Froschorgane (je 1 ccm ev. mehrere Organe) werden mit 1 ccm Tetanustoxinlösung in abgestuften Mengen versetzt, 5mal zentrifugiert und je $\frac{1}{4}$ ccm Rückstand injiziert.

Maus	17 g	Blut	+ $\frac{1}{4}$ ccm Lösung	1:300 000	bleibt frei
"	16 " von 3 Milzen	+ $\frac{1}{4}$ "	"	1:150 000	"
"	15 " " 2 Nieren	+ $\frac{1}{4}$ "	"	1:80 000	"
"	16 " " Leber	+ $\frac{1}{4}$ "	"	1:80 000	"
"	19 " " 2 Gehirne	+ $\frac{1}{4}$ "	"	1:80 000	bleibt frei
"			"	1:80 000	nach 2 Tagen † (nicht tet.)
"			"	1:80 000	bleibt 18 Tage frei, nach 21 Tagen † tet.

E. Attraktionsversuche mit Huhnorganen.

Normale Organe vom Huhn (je 3 ccm) werden versetzt mit 10 ccm einer Lösung Tetanustoxin 1:100 000 (Dosis so groß gewählt, um die entgegenwirkende bindende Kraft auszuschalten) nach 3 Stunden 5mal zentrifugiert und $\frac{1}{4}$ ccm Mäusen subkutan injiziert.

Maus	20 g Leber	Nach	1	2	3	4 Tage
		frei	beg. Tet.	starker Tet.	† tet.	

schnell (in $\frac{1}{2}$ Stunde) in prämortale Paralyse über, die beim Verbringen in Zimmer-temperatur jedoch noch einmal in Starre überzuführen ist.

Ein starker Frosch bekommt 0,001 intracerebral, nach 10 Minuten starker Tetanus, Opisthotonus, Abstreckung der Extremitäten, Krämpfe, nach 2 Stunden Verschwinden aller Erscheinungen, nach 3 Tagen wieder schwer tet., nach 5 Tagen † tet.

Ein Frosch bekommt 0,001 in $\frac{1}{10}$ ccm ins Rückenmark und bleibt ohne alle Erscheinungen 14 Tage lang, am 15. und 16. Tage tetanisch, 17. und 18. stark tetanisch, 19. sterbend, 20. † tet.

Kontrolle: Kochsalzlösung intracerebral 5 Versuche ohne Erscheinungen.

Ueber intracerebrale Injektion von Mäusen cf. Toxizitätsbestimmung.

C. Versuche über natürliche antitoxische Immunität bei natürlicher (nicht cerebraler) Injektion.

Frosch erhält 1 ccm Lösung 1:100 Tetanustoxin in den Lymphsack, er bleibt 8 Tage frei, ist am 9 Tage leicht tetanisch, nach 15 Tagen frei, nach 18 Tagen leicht tetanisch, nach 19 Tagen mittelstark tetanisch, der Tetanus nimmt zu, der Frosch stirbt nach 22 Tagen.

3 Frösche erhalten 1 ccm 1:100 Lösung von Tetanustoxin in den Lymphsack.

	17	18	20	21	25	28	29 Tag
a) bleiben	} leicht tet.	stark tet.	† tet.				
b) 16 Tage		leicht „	schwer tet.	† tet.			
c) frei		frei	suspekt	suspekt	do.	tet.	† tet.

4 Frösche erhalten 1 ccm 1:1000 Lösung von Tetanustoxin in den Lymphsack.

	21	22	23	24—26	27	29	30—34 Tag
a) bleiben	} susp.	} susp.	} leicht tet.	} do.	} sterb. tet.	} † tet.	
b) 20 Tage							
c) frei							
d) frei	} frei	} tet.	}	}	} tetanisch	} stark tet.	} stark tet. † tet.

Der leichte Tetanus der Frösche äußert sich durch ein Nachziehen der Füße, wodurch parademarschähnlicher Gang entsteht, und durch Schwerbeweglichkeit bei Rückenlage, bei stärkerem Tetanus werden die hinteren Extremitäten fortgestreckt, es besteht tonischer Krampf, von klonischem unterbrochen, Opisthotonus etc.

Protokolle zu den Versuchen über die Beteiligung der lipoiden Substanz im Gehirn an der Giftbindung.

(p. 233—235.)

Die Versuche wurden veranlaßt durch die immer wieder auftretende Behauptung, daß den Fettsubstanzen im Gehirn eine Rolle bei der Giftbindung zufalle; diese Behauptung veranlaßt Metschnikoff zu der weiteren Behauptung, daß das Gehirn des Frosches wegen seiner Fettarmut kein Tetanustoxin bindet. Wie unsere Versuche ergeben, ist sowohl die Voraussetzung wie die Schlußfolgerung nicht aufrecht zu erhalten.

Die Versuche wurden, um gleichzeitig über andere Verhältnisse etwas Klarheit zu bekommen (wiederholte Zentrifugation) mannigfach variiert.

Serie A zeigt, daß durch wiederholtes Waschen mit phys. Kochsalzlösung mit nachfolgender Zentrifugation dem Gehirn seine bindende Kraft nicht genommen wird.

Serie BI und BII zeigt am Hammel und Kaninchengehirn eindeutig, daß Rezeptoren beim wiederholten Waschen nicht in das Waschwasser übergehen, wie ich in analoger Weise gemeinsam mit Rosenbaum die Nichtabstoßung der Rezeptoren bei der Autolyse gezeigt habe. (B. kl. W. 06. No. 28.)

Serie C zeigt ebenfalls eindeutig, daß Lecithin gegenüber Tetanustoxin keine bindenden oder neutralisierenden Eigenschaften zukommen.

Serie D zeigt ebenfalls eindeutig, daß den getrockneten Gehirn-Aether-extraktresten selbst in großer Dosis (0,1 g) keine schützenden Eigenschaften gegenüber Tetanusgift zukommen. Sowie die Toxindosis größer als die tödliche 0,000001 g gewählt wurde, trat ohne Verzögerung der Tod ein.

Serie EI und EII beschäftigt sich in umfangreichen Versuchen mit den Eigenschaften des Gehirns nach ein- und zweimaliger Aetherausschüttelung. Die Resultate werden infolge der zahlreichen Manipulationen, die mit dem Gehirn vorgenommen werden, etwas unsicher, doch geht aus den Versuchen hervor, daß eine wesentliche Verminderung der Bindungskraft durch die Aetherausschüttelung nicht eingetreten ist.

Serie EIII und Serie IV zeigt, daß eine gleiche Verminderung der Bindungsfähigkeit durch Trocknung mit und ohne Aetherextraktion eintritt. Die Verminderung der Bindungskraft erfolgt durch die erforderlichen Manipulationen, nicht durch den Aether.

A. Hammelgehirn, 3mal mit phys. NaCl-Lösung zentrifugiert, mit Tetanustoxin versetzt, 3 Stunden bei Zimmertemperatur $\frac{1}{4}$ ccm Mäusen subkutan injiziert.

Maus 15 g $\frac{1}{4}$ ccm Brei + 0,00000312 g Tetanustoxin = $\frac{1}{4}$ ccm Lösung 1: 80 000 nach 24 Std. ohne Ersch., nach 9 Tagen leichte Parese, anhaltend 9 Tage später geheilt.
 " 15 " $\frac{1}{4}$ " " + 0,00000166 " " 1: 150 000 ohne Erscheinungen
 " 15 " $\frac{1}{4}$ " " + 0,00000083 " " 1: 300 000 " "

B I. Spülwasser von 1mal zentrifugiertem Hammelgehirn, davon $\frac{1}{4}$ ccm Spülwasser + Tetanustoxin 3 Stunden bei Zimmertemperatur gemischt gehalten, Mäusen subkutan injiziert.

Maus 15 g $\frac{1}{4}$ ccm Spülwasser + Tetanustoxin subkutan 0,00000312 g Tetanustoxin = $\frac{1}{4}$ ccm Lösung 1: 80 000 nach 24 Std. ohne Ersch., nach 48 Std. + (tet.)
 " 17 " $\frac{1}{4}$ " " + " " = $\frac{1}{4}$ " " 1: 100 000 nach 1 Tag leicht tet., nach 2 Tagen + tet.
 " 15 " $\frac{1}{4}$ " " + " " 0,00000166 " " = $\frac{1}{4}$ " " 1: 150 000 nach 24 Std. ohne Ersch., nach 48 Std. stark tet., nach 72 Std. +
 " 15 " $\frac{1}{4}$ " " + " " " " = $\frac{1}{4}$ " " 1: 200 000 nach 1 Tag suspekt, nach 2 Tagen sterbend tet., nach 3 Tagen +
 " 19 " $\frac{1}{4}$ " " + " " 0,00000083 " " = $\frac{1}{4}$ " " 1: 300 000 nach 24 Std. ohne Ersch., nach 48 Std. mittelschwer. Tet., nach 72 Std. + (tet.)

B II. Kaninchengehirn do. Spülwasser.

Maus $\frac{1}{4}$ ccm Spülwasser + Tetanustoxin subkutan 0,00000312 g = $\frac{1}{4}$ ccm Lösung 1: 80 000 nach 3 Tagen schwer tet., nach 4 Tagen +
 " $\frac{1}{4}$ " " " + " " 0,00000083 " = $\frac{1}{4}$ " " 1: 300 000 " 24 Std. parietisch, nach 48 Std. + tet.

C. Lecithinversuche.

0,1 g Lecithin + 1 ccm Tetanustoxin 3 Stunden bei Zimmertemperatur, davon $\frac{1}{4}$ ccm Mäuse subkutan injiziert.

Maus 15 g 0,025 g Lecithin + $\frac{1}{4}$ ccm Tetanustoxinlös. 1: 200 000 nach 1 Tag suspekt, nach 2, 3 u. 4 Tagen stark tet., nach 5 Tagen + tet.
 " 16 " 0,025 " " + $\frac{1}{4}$ " " 1: 150 000 " 1 " " 2 Tagen tet., nach 3 Tagen stark tet., nach 4 Tagen + tet.

NB. $\frac{1}{4}$ ccm Aetherextrakt von Hammelgehirn normal in Succesaivdosen injiziert, wird getragen.

D. 0,1 g Aetherextrakt getrocknet von 2mal mit Aether ausgeschütteltem Hammelgehirn + $\frac{1}{8}$ ccm NaCl-Lösung + $\frac{1}{8}$ ccm Tetanus Höchst 3 Stunden bei Zimmertemperatur gemischt, Mäusen $\frac{1}{4}$ ccm subkutan injiziert.

Maus 17 g 0,1 g Aetherextr. + $\frac{1}{8}$ ccm NaCl-Lösung + $\frac{1}{8}$ ccm Lös. 1:300 000 = 0,000000416 g Tetanustoxin	bleibt frei, † nach 32 Tagen,
" 16 " 0,1 " " + $\frac{1}{8}$ " " " 1:150 000 = 0,000000833 "	nicht tet. bleibt frei, † nach 31 Tagen,
" 16 " 0,1 " " + $\frac{1}{8}$ " " " 1:80 000 "	nach 3 Tagen leichte Parese, nicht tet.
" 25 g 0,1 " " + $\frac{1}{8}$ " " " 1:100 000 = 0,00001 "	4.—8. Tag leicht tetanisch, 9.—18. Tag stark tetanisch, 19. Tag † (tet.) am 1. Tag frei, 2. Tag susp., 3. Tag † tet.

EL. Gehirnbrei-Aetherextraktion (Hammel).

A. Das feuchte Gehirn wurde in Reibschale mit möglichst wenig phys. Kochsalzlösung zerrieben, mit Aether versetzt, geschüttelt, im Schütteltrichter 24 Stunden stehen gelassen, abgeseiht, z. T. frisch verwendet, z. T. der Aether abgedunstet im 37° Brutschrank, bis zum Trocknenrückstand; dieser Rückstand abgewogen, in phys. Kochsalzlösung gelöst und injiziert.

Maus 15 g $\frac{1}{8}$ ccm Gehirnbreirückstand + 0,0000156 g Toxin subkutan	nach 3-stünd. Mischung mit dem einmal extrahierten feuchten Gehirnbrei nach 48 Std. Parese, nach 72 Std. tet., nach 78 Std., sterbend, nach 96 Std. †
" 15 " $\frac{1}{8}$ " " nach 1mal Aetherextrakt. "	nach 3-stünd. Mischung, n. 3 Tagen leichte Parese, n. 5 Tagen †
" 15 " $\frac{1}{8}$ " " + 0,0000096 g Toxin	"
" 15 " $\frac{1}{8}$ " " $\frac{1}{8}$ ccm Lös. 1:150 000	bleibt frei, † nach 26 Tagen
" 15 g $\frac{1}{8}$ " " + 0,00000046 g Toxin	"
" 15 g $\frac{1}{8}$ " " $\frac{1}{8}$ ccm Lös. 1:300 000	2 Tage frei, 1 Tag susp., 2 Tage leicht tet., 1 Tag tet., 7 Tage stark tet., 5 Tage leicht tet., dann frei
" 15 g $\frac{1}{8}$ " " + $\frac{1}{8}$ NaCl + $\frac{1}{8}$ ccm Tetanustoxin 1:75 000	"

EII. Feuchter Gehirnbrei nach Aetherextraktion (Hammel).

2malige Extraktion.

Maus 15 g $\frac{1}{4}$ ccm Gehirnbrei nach 2mal. Extraktion + $\frac{1}{8}$ Tetanus v. Lös. 1:80 000	nach 3-stünd. Mischung, nach 24 Std. † (tet.)
" 17 " $\frac{1}{4}$ " " " + $\frac{1}{8}$ Tetanus " " 1:150 000 "	" " 9—12 Tagen leicht
" 15 " $\frac{1}{4}$ " " " + 0,00000167 g "	" " paretisch, später frei
" 15 " $\frac{1}{4}$ " " " + $\frac{1}{8}$ Tetanus " " 1:300 000 nach 3-stünd. Mischung, bleibt frei	"
" 15 " $\frac{1}{4}$ " " " + 0,000000833 g "	"

Nach 1maliger Extraktion.

Maus 18 g Gehirn nach 1mal. Extraktion + $\frac{1}{8}$ Tetanus 1:150 000	bleibt frei, wird nach 7 Tagen aufgefressen
" 18 " " " + $\frac{1}{8}$ " " 1:300 000	2 Tage frei, 3 Tage leicht tet., 1 Tag schwer tet., † nach 7 Tagen

III. 0,1 g getrockneten Gehirns entspricht ca. 1 g feuchten Gehirns, das Gehirn wurde mit 0,5 NaCl-Lösung aufgeschwemmt, also dürfte man, um mit dem feuchten Gehirn gleiche Verhältnisse zu erzielen, nicht je $\frac{1}{8}$ g, sondern nur je $\frac{1}{16}$ g injizieren.

II. Das 2 mal mit Aether extrahierte Hammelgehirn wird getrocknet, 0,1 g mit $\frac{1}{8}$ ccm phys. NaCl-Lösung aufgeschwemmt, mit Tetanustoxin versetzt und nach 3-stünd. Mischung bei Zimmertemperatur $\frac{1}{8}$ ccm Mäusen injiziert.

Maus 15 g 0,025 g Gehirnrückstand + 0,0000015 g Tetanus nach 72 Std. Parese, leichter Tetanus, nach 96 Std. deutlicher Tetanus, nach 120 Std. + (tet.)

" 17 g 0,025 g Gehirnrückstand + 0,0000075 g Tetanus nach 72 Std. o. B., nach 96—120 Std. leicht paretisch, nach 6—14 Tagen frei, [nach 15 Tagen + (tet. ??)]

Das 1 mal ätherextrahierte Hammelgehirn wird getrocknet, 0,1 g mit $\frac{1}{8}$ ccm phys. NaCl-Lösung versetzt, mit Tetanustoxin versetzt, $\frac{1}{8}$ ccm Tetanustoxin 1:300 000, bleibt 12 Tage frei, dann + ?

Maus 19 g 0,025 g Gehirn + $\frac{1}{8}$ ccm Tetanustoxin 1:300 000, bleibt 12 Tage frei, dann + ?

E IV. Frisch getrocknetes Hammelgehirn (ohne Aetherextraktion).

Maus 18 g 0,025 g getrockn. Geh. + $\frac{1}{8}$ ccm NaCl-Lös. + $\frac{1}{8}$ ccm v. Lös. 1:75 000 1. Tag suspekt, 2. Tag +

" 16 " 0,025 " " + $\frac{1}{8}$ " " " 1:80 000 nach 7—10 Tagen leicht paretisch, nach 11 Tagen stark tet., nach 13 Tagen schwächer, n. 16 Tagen + (tet.)

" 15 " 0,025 " " + $\frac{1}{8}$ " " " 1:150 000 nach 4 Tagen Parese, nach 6 Tagen + (tet.), 3 Tage schwach, 12 Tage + nicht tet.

Maus 15 g 0,025 g getrockn. Geh. + $\frac{1}{8}$ ccm v. Lös. 1:300 000 bleibt frei!

= 0,000000416 g Tetanustoxin 8 Tage frei, 3 Tage schwach tet., am 12. Tag + nicht tet.

E V. Das normale Gehirn wird in Exsikator getrocknet; dann 2mal mit Aether extrahiert, der Rückstand getrocknet.

0,1 g getrocknetes Hammelgehirn nach 2mal. Aetherextraktion + $\frac{1}{2}$ ccm NaCl-Lösung + $\frac{1}{2}$ ccm 1:80 000 Tetanus Höchst nach 3 Stunden bei Zimmertemperatur, davon $\frac{1}{4}$ ccm subkutan injiziert.

Maus 15 g 0,025 g getrockn. Hammelgeh. + $\frac{1}{8}$ ccm NaCl-Lös. + $\frac{1}{8}$ ccm Tetanustoxin 1:80 000 nach 2 Tagen leichter Tet., 4—25 Tagen starker Tet., 25—27 Tagen schwacher Tet., von da ab frei

" 16 " 0,025 " " + $\frac{1}{8}$ " " " 1:150 000 bleibt frei

" 15 " 0,025 " " + $\frac{1}{8}$ " " " 0,00000833 g Tetanustoxin

= + $\frac{1}{8}$ ccm Tetanustoxin 1:300 000

= 0,000000416 g Tetanustoxin

Die Versuche ergeben einwandsfrei, daß für eine lipoid Natur der bindenden Substanz im Gehirn bisher kein Beweis erbracht ist. Sie berühren sich mit den neuerdings auf ganz anderer Basis von Marie und Tiffeneau (C. r. de la Soc. de Biol. 07. No. 23) mitgeteilten Befunden, die zeigten, daß in einer neutralen Tetanustoxin-Gehirnmischung durch ein proteolytisches Ferment, das Papain, die neutralisierende Substanz zerstört wird. Ob diese Substanz nicht gleichzeitig Fettcharakter hat, wollten die Autoren jedoch erst durch weitere Versuche mit Steapsin feststellen. Unerklärt an diesen Versuchen von Marie bleibt, warum Papain, auf Gehirn allein einwirkend, die neutralisierende Substanz nicht ebenfalls zerstört.

Protokolle über das Attraktionsvermögen von Organen bei mehrmaliger Waschung.

Indem die Organe mit größeren Mengen sehr verdünnter Toxinlösungen angestellt, dann mehrfach gewaschen und zentrifugiert wurden, bekam man eine sehr klare Vorstellung über das Attraktionsvermögen. Es geht aus den Versuchen zur Evidenz hervor, daß bei der Mehrzahl der Organe das Attraktionsvermögen viel größer noch, als das Bindungsvermögen ist. Wenn in den Organen nicht eine besondere Attraktionskraft vorhanden wäre, könnte das Organ nach den verschiedenen Waschungen nicht die Dosis letalis an Gift enthalten.

Serie A. Sämtliche Kaninchenorgane haben ein starkes Attraktionsvermögen, nur beim Gehirn überwiegt das Bindungsvermögen über eine eventuell vorhandene Attraktion, sie vollkommen verdeckend.

Serie B. Die Organe des Meerschweinchens, außer Muskel und Gehirn, zeigen eine schwache Attraktionskraft.

Serie C. Bei der Maus zeigen Niere und Muskel Attraktionsvermögen, Leber und Gehirn kein Attraktionsvermögen.

Serie D. Beim Frosch zeigt Milz und Gehirn ein geringes Attraktionsvermögen (cf. Bindungsversuch beim Frosch).

Serie E. Beim Huhn zeigt Leber ein starkes Attraktionsvermögen (andere Versuche stehen aus).

I. Versuchsserie.

Protokolle über die Beteiligung der lipoiden Substanz im Gehirn an der Giftbindung.

Die Versuche wurden veranlaßt durch die immer wieder auftretende Behauptung, daß den Fettsubstanzen im Gehirn eine Rolle bei der Giftbindung zufalle. Diese Behauptung veranlaßte Metschnikoff zu der weiteren Behauptung, daß das Gehirn des Frosches wegen seiner Fettarmut kein Tetanustoxin bindet. Wie unsere Versuche ergeben, ist sowohl die Voraussetzung wie die Schlußfolgerung nicht aufrecht zu erhalten.

Die Versuche wurden, um gleichzeitig über andere Verhältnisse etwas Klarheit zu bekommen (wiederholte Zentrifugation) mannigfach variiert.

Serie A zeigt, daß durch wiederholtes Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung mit nachfolgender Zentrifugation dem Gehirn seine bindende Kraft nicht genommen wird.

Serie BI und BII zeigt am Hammel- und Kaninchengehirn eindeutig, daß Rezeptoren beim wiederholten Waschen nicht in das Waschwasser übergehen, wie ich in analoger Weise gemeinsam mit Rosenbaum die Nichtabstoßung der Rezeptoren bei der Autolyse gezeigt habe.

Serie C zeigt ebenfalls eindeutig, daß Lecithin gegenüber Tetanustoxin keine bindenden oder neutralisierenden Eigenschaften zukommen.

Serie D zeigt ebenfalls eindeutig, daß dem getrockneten Gehirnnätherextrakt-rückständen selbst in großer Dosis (0,1 g) keine schützenden Eigenschaften gegenüber Tetanustoxin zukommen.

Sowie die Toxindosis größer, als die tödliche 0,000001 g gewählt wurde, trat ohne Verzögerung der Tod ein.

Serie EI und EII beschäftigt sich in umfangreichen Versuchen mit den Eigenschaften des Gehirns nach ein- und zweimaliger Ätherausschüttelung. Die Resultate werden infolge der zahlreichen Manipulationen, die mit dem Gehirn vorgenommen wurden, etwas unsicher, doch geht aus den Versuchen hervor, daß eine wesentliche Verminderung der Bindungskraft durch die Ätherausschüttelung nicht eingetreten ist.

Serie EIII und EIV zeigt, daß eine gleiche Verminderung der Bindungsfähigkeit durch Trocknung mit und ohne Ätherextraktion eintritt. Die Ansicht von Landsteiner und Eisler (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIX. 1905), nach denen die Lipoidextraktion durch Äther, der Grund der Bindungsverminderung sei, bestehen nach unserer Anschauung nicht zu Recht, denn die Versuche ergeben einwandsfrei, daß für eine lipoid Natur der bindenden Substanz im Gehirn bisher kein Beweis erbracht ist. Erwähnt sei Wassermanns Hinweis (Centralbl. f. Bakt. 1906. Ref.), daß die weiße

Substanz reicher an Lipoiden ist und trotzdem die graue Substanz stärker bindet. Sie berühren sich mit den neuerdings auf ganz anderer Basis von Marie und Tiffeneau (Compt. rend. de la soc. de biol. 1907. No. 23) mitgeteilten Befunden, die zeigten, daß in einer neutralen Tetanusgiftgehirnmischung durch ein proteolytisches Ferment, das Papain, die neutralisierende Substanz zerstört wird. Ob diese Substanz nicht gleichzeitig Fettcharakter hat, wollen die Autoren jedoch erst durch weitere Versuche mit Steapsin feststellen. Unerklärt an diesen Versuchen bleibt, warum Papain, auf Gehirn allein einwirkend, die neutralisierende Substanz nicht ebenfalls zerstört.

Versuche mit intracerebraler Giftinjektion.

Serie A. Die Versuche ergaben, daß bei Mäusen, bei denen $\frac{1}{10,000,000}$ g Toxin subkutan Tetanus auslöst, bei cerebraler Giftzufuhr $\frac{1}{1,000,000}$ die Grenze bildet, während $\frac{1}{5,000,000}$ g sicher Tetanus auslöst.

Serie B zeigt die Erscheinungen bei intracerebraler Giftzufuhr bei Fröschen. Es gelingt mit relativ kleinen Dosen fast augenblicklich, auch bei der Temperatur des Eisschranks Tetanus zu erzeugen. Die Annahme, daß bei niedriger Temperatur das Gehirn Tetanustoxin nicht bindet, ist also unrichtig. Es bestehen bei intracerebraler Injektion einige klinische Abweichungen: unter anderem verschwinden die tetanischen Erscheinungen wieder und kommen dann nach einigen Tagen erneut zum Ausbruch.

Serie C zeigt — selbst bei Injektion viel größerer Dosen, 0,01 g in den Lymphsack — den völlig abweichenden klinischen Verlauf: Inkubationsdauer 20 Tage etc.

Nachdruck verboten.

Studien zur Immunität und Morphologie bei Vaccine.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg.

Vorstand: Med.-Rat Prof. Dr. Nocht.]

Von Marinestabsarzt Dr. Arndt.

Mit 1 Tafel.

In der Lehre von der Vaccine, die aus naheliegenden Gründen der wissenschaftlichen Forschung das Verständnis des Wesens der Variola zu vermitteln berufen ist, haben in den letzten Jahrzehnten zwei Fragen erhöhtes Interesse gewonnen, die der Morphologie bezw. Biologie des vermutlichen Erregers und die Immunitätsverhältnisse des mit Vaccine infizierten Organismus. In beiderlei Hinsicht ist unser Wissen um wichtige Tatsachen bereichert worden, jedoch harrt noch manche Frage der Lösung.

Im folgenden soll über einige Versuche berichtet werden, die sich auf die vorerwähnten Fragen beziehen. Sie wurden an Kaninchen, in je drei Fällen an Huhn und Taube angestellt. Zur Verwendung gelangte ausschließlich animalische, aus der Hamburger Staatsimpfanstalt stammende Lymphe. Als Mengeneinheit wurde der Inhalt eines Kapillarröhrchens (= 1 Portion Lymphe) gewählt. Die Lymphe wurde bei fast allen Impfungen der Rückenhaut der Versuchstiere mittels Verreibens auf der rasierten und gereinigten Impffläche einverleibt. Diese von Chantemesse und Guérin angegebene Methode hat, ohne daß sie durch die von L. Pfeiffer und Voigt angegebene Modifikation, die in Einreiben der rasierten Fläche mit Sandpapier besteht, ergänzt zu werden brauchte, gute Ergebnisse geliefert: es kam bei allen Erstimpfungen mit wirksamer Lymphe zur Bildung von Pusteln und Papeln nach 3—4 Tagen. In einem Falle wurde die Depilation mit 40-proz. wässriger Lösung von Natrium sulfuricum nach Ballah vorgenommen. Da das Versuchstier am Tage nach der Impfung infolge von Trauma einging, konnten

die Vorzüge dieses Verfahrens nicht erprobt werden. Es sei an dieser Stelle einer Äußerung Bonnhoffs Erwähnung getan. Er bemerkte in einem Vortrage über Lapine: „Ob Kaninchen vielleicht nach der Rücken-hautimpfung an Allgemeininfektion durch das Vaccinevirus sterben, ist bisher meines Wissens nirgends erörtert. Ich glaube, diese Frage behagen zu dürfen . . .“ Auf einem ähnlichen Standpunkte stehen De Waele und Sugg, die bei Impfversuchen auf rasierter Haut keine positiven Resultate erhielten. Sie sagen: „Die Empfänglichkeit des Kaninchens für Vaccine ist großen individuellen Verschiedenheiten unterworfen. Das Kaninchen widersteht großen Dosen des Pockengiftes und reagiert nicht durch Eruption, aber es geht schließlich an Kachexie zugrunde“. Demgegenüber ist vielleicht die Tatsache von Interesse, daß von 10 in der gedachten Weise geimpften Kaninchen bis auf das oben erwähnte Tier kein einziges eingegangen ist. Kommt es zu Todesfällen nach Hautimpfungen der Kaninchen, so brauchen diese meines Erachtens nicht ohne weiteres auf Rechnung der Vaccine gesetzt zu werden, zumal bei diesen Tieren mancherlei in ihrem Wesen noch unbekannte, vielfach auf einseitige Ernährung zurückzuführende Krankheiten vorkommen, die tödlich zu endigen pflegen.

Die Ergebnisse der Hornhautimpfungen wurden in den meisten Fällen an Paraffinschnitten geprüft, welche mit Heidenhains Eisen-hämatoxylin und Böhmers Hämatoxylin sowie nach Gram gefärbt wurden, in einigen Fällen an Präparaten von Epithelabschabungen bzw. Klatschpräparaten der geimpften Hornhaut nach Ewing.

Die angestellten Versuche gliedern sich ihrer Art nach in zwei Gruppen, von denen die eine die Immunitätsverhältnisse der Körperdecke und der Hornhaut des Kaninchens, die andere die morphologisch-biologischen Verhältnisse des vermutlichen Vaccineerregers zum Gegenstande hatte.

Bei der erstgenannten Gruppe, die zunächst besprochen werden soll, wurde als feststehend vorausgesetzt, daß sowohl Körperdecke und Hornhaut des Kaninchens, als auch die Hornhäute selbst hinsichtlich der Immunität voneinander unabhängig sind. Beobachtungen, wie die von Gorini, der durch die einfache Hornhautimpfung selbst Immunität hervorrufen konnte, stehen vereinzelt da.

Was zunächst die Immunität der Körperdecke betrifft, so handelte es sich um folgende Fragen:

1) Ist eine aktive Immunisierung durch kutane und subkutane Einverleibung von aktiver Lymphe, ferner durch subkutane Einverleibung von inaktivierter bzw. abgetöteter Lymphe möglich und nach welcher Zeit tritt Immunität ein?

2) Ist eine passive Immunisierung durch subkutane Einverleibung von Immunkörpern möglich?

Um den Eintritt der Immunität festzustellen, wurde außer der kutanen Nachimpfung folgendes Verfahren angewandt: Von der geimpften bzw. wiedergeimpften Hautstelle wurde das Epithel abgeschabt und im Porzellanschälchen mit 1—2 ccm Glycerin oder der gleichen Menge einer Mischung von Glycerin und physiologischer Kochsalzlösung gründlich gepreßt und verrieben. Nach 24-stündigem Stehenlassen bei Zimmer-temperatur wurde die Mischung dann durch angefeuchtetes Fließpapier filtriert, das Filtrat zu gleichen Teilen mit Lymphe zusammengebracht und corneal verimpft. War Immunität vorhanden, so machten die aus dem Epithel auf die geschilderte Weise gewonnenen Immunkörper die

Lympe unwirksam und das Ergebnis der Hornhautimpfung, am Auftreten oder Fehlen der Guarnierischen Körperchen geprüft, war negativ. Das Prinzip, das diesem Verfahren, über welches, soweit mir bekannt, in der Literatur Angaben sonst nicht vorliegen, zugrunde liegt, nämlich Unwirksammachung des Virus durch Einwirkenlassen von Immunkörpern außerhalb des Tierkörpers, erörtert von Prowazek im 2. Teil seiner Untersuchungen über den Erreger der Vaccine. Er sagt dort: „Die Aktivität einer infizierten Hornhaut wird beim Kaninchen durch entsprechende oder gleiche Mengen von Zellmaterial, das einer ausgeheilten, immunen Hornhaut angehört hatte, nur dann herabgesetzt oder unwirksam gemacht, wenn man die fraglichen Zellen, in denen die Immunkörper sitzen, mechanisch oder durch Trypsinverdauung aufschließt und dann die beiden Zellderivate gründlich durchmischt, um nach einiger Zeit gegenseitiger Einwirkung die Impfungen vorzunehmen.“

In der Frage der Immunisierung durch kutane Einverleibung der Lympe wurden drei Versuche angestellt: 3 Kaninchen wurden an der Rückenhaut mit je 10 Portionen Lympe geimpft. Bei 2 Tieren wurde das Vorhandensein der Immunität durch die Wiederimpfung, bei welcher eine Hautreaktion nicht auftrat, festgestellt, bei dem einen außerdem durch negativen Ausfall der kornealen Verimpfung eines Gemisches von Lympe und Glyzerinextrakt des von der revaccinierten Rückenhaut abgeschabten Epithels, und bei dem dritten allein durch corneale Verimpfung, bei der das Epithel der vaccinierten Rückenhaut benutzt wurde, mit negativem Ergebnis. Die eingetretene Immunität konnte auf diese Weise nach 8, 17 und 18 Tagen nachgewiesen werden. In einem Falle wurde außerdem durch negativen Ausfall einer 2. Revaccination festgestellt, daß bei dem betreffenden Tier Immunität noch nach 5 Wochen vorhanden war.

Das Ergebnis dieser Versuche, wonach also zweifellos beim Kaninchen Immunität der Körperdecke durch kutane Einverleibung von Lympe erzielt werden kann, steht in Uebereinstimmung mit den meisten der bisher in der Literatur hierüber veröffentlichten Befunde. Nur Mühlens und Hartmann äußern sich folgendermaßen: „Wir haben viermal versucht, bei 3 kg schweren Kaninchen Vaccinepusteln zu erzeugen . . . , und zweimal durch kutane Einreibungen. Von diesen Versuchen war keiner positiv. Möglich, daß die Lympe, die im übrigen gute Resultate bei Hornhautimpfungen gab, für diese Zwecke nicht virulent genug war, möglich aber auch, daß die uns zur Verfügung stehende Kaninchenrasse sich nicht eignete.“ Die Verschiedenheit der oben geschilderten Ergebnisse von denen der genannten Autoren läßt sich vielleicht darauf zurückführen, daß die Mengen der von letzteren verwandten Lympe nicht groß genug waren. Ein Einfluß der Rassenunterschiede bei den Kaninchen in dieser Hinsicht ist meines Erachtens unwahrscheinlich, da bei den hier angestellten Versuchen Tiere der verschiedensten Rassen benutzt wurden.

An einem weiteren Kaninchen wurde die Möglichkeit der Immunisierung durch subkutane Einverleibung von wirksamer Lympe geprüft: Dem Tiere wurden 10 Portionen Lympe, mit physiologischer Kochsalzlösung zu 1 ccm Flüssigkeit gemischt, unter die Haut gespritzt. Eine nach 17 Tagen vorgenommene kutane Nachimpfung ergab keine Reaktion, Immunität war mithin eingetreten. Die Angaben über erfolgreiche Immunisierungen bei subkutaner Impfung in der Literatur sind zahlreich. So erzielten z. B. Kraus und Volk mit verdünnter Vaccine

(1:400, 1:500, 1:1000) durch subkutane Einspritzung bei Makaken nach 19 bis 35 Tagen, v. Prowazek ebenfalls an Affen vom 10. Tage ab Immunität, die am 7. Tage noch nicht vorhanden war. Von überaus großer praktischer Bedeutung sind die diesbezüglichen Versuche von Knöpfelmacher und Nobl an Kindern. Ersterer hat durch subkutane Injektionen von stark verdünnter Lymphe bei 17, Nobl bei 74 Kindern vom 12. Tage ab Immunität erzielen können, wie durch kutane Nachimpfungen festgestellt werden konnte. Mit vollem Recht gelangen beide Autoren auf Grund dieser Versuche zu dem Schlusse, daß wohl diese Methode die ideale Methode der Schutzimpfung sein dürfte, da sie neben den Unbequemlichkeiten, die der kutanen Impfung anhaften, vor allem die Gefahren der Uebertragung der Vaccine von dem Geimpften auf seine Umgebung vermeidet. Daß letztere doch nicht unterschätzt werden dürfen, lehrt ein Blick auf die diesbezüglichen Notizen in der Literatur: So hat Blochmann nicht weniger als 140 Fälle von Uebertragung von Vaccine auf nicht geimpfte Personen zusammengestellt; davon betrafen 120 Fälle Erwachsene bzw. größere Kinder, 20 Fälle nicht geimpfte Säuglinge; 19 Kinder, von denen 6 starben, waren ekzematös. Groth berichtet über eine Mortalität von 30 Proz. bei Vaccineinfektion nicht geimpfter ekzematöser Kinder, Kissling über 2 Fälle von generalisierter Vaccine nach Uebertragung der Vaccine auf ein chronisches Gesichtsekzem, Alexander über Vaccineerkrankungen des Auges, Lublinski über accidentelle Vaccination der Nasenschleimhaut, Erkrankungen der Schamlippen u. s. f. Gelegentlich wird über schwere Schädigungen nach Vaccineübertragung auf Nichtgeimpfte, wie z. B. Verlust des Augenlichtes, berichtet. Die Schwäche des Verfahrens der subkutanen Impfung dürfte zurzeit wohl noch in dem Mangel eines absolut einwandfreien Kriteriums der erfolgten Immunisierung liegen, als welches das Auftreten des Infiltrates an der Impfstelle vielleicht noch nicht anzusehen ist. Ein sicheres Kriterium für die erfolgte Immunisierung, bei dem man allerdings der subkutanen Impfung eine kutane Nachimpfung hinzufügen müßte, würde meines Erachtens die Feststellung des von v. Pirquet angegebenen, als Frühreaktion bezeichneten Phänomens sein. Das Eintreten desselben konnte hier bei Dr. v. Prowazek, der den entsprechenden Versuch liebenswürdigerweise an sich zu machen gestattete, und der dafür auch besonders geeignet erschien, da er sich innerhalb der letzten 2 Jahre etwa 8mal Impfungen unterzogen hatte, bereits 7 Stunden nach der mit Vaccine in Verdünnung 1:10 000 bewirkten Impfung beobachtet werden. Um in diesem Falle jede Möglichkeit anderer Deutung der Reaktion auszuschließen, wurden von der kurz nach Auftreten der Reaktion herausgeschnittenen Impfstelle der Haut des Oberarms Schnitte gefertigt. In diesen konnten Guarnieri-sche Körperchen nicht nachgewiesen werden.

An die Feststellung der Möglichkeit kutaner und subkutaner Immunisierung mit aktiver Lymphe schloß sich die Prüfung des Verhaltens des Kaninchenorganismus bei subkutaner Impfung mit inaktivierter bzw. abgetöteter Lymphe. Die Inaktivierung der Lymphe fand durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 58° C, die Abtötung durch 24-stündiges Einwirkenlassen von gleichen Mengen frischer Kaninchengalle auf die Lymphe statt. Es wurden 4 Kaninchen je 10 Portionen Lymphe eingespritzt, wobei die inaktivierten Lymphmengen mit physiologischer Kochsalzlösung zu je 1 ccm Flüssigkeit vermischt wurden. Die Prüfung, ob Immunität eingetreten sei, erfolgte durch kutane Nachimpfung nach 5, 6, 14 und

18 Tagen. In allen Fällen zeigte sich am 3. oder 4. Tage nach der Nachimpfung deutliche Papel- und Pustelbildung, während eine Frühreaktion im v. Pirquetschen Sinne niemals zu konstatieren war. Eine Immunisierung durch die Einverleibung dieser Lymphe war demnach nicht erfolgt. Ließe sich nun das Ausbleiben der Immunität am 5. und 6. Tage allenfalls damit erklären, daß Immunität, wie es ja auch nach Impfung mit aktiver Lymphe der Fall ist, im allgemeinen nach so kurzer Frist noch nicht zu erwarten ist, so kann ihr Ausbleiben am 14. und 18. Tage meines Erachtens nur dahin gedeutet werden, daß der inaktivierten bzw. abgetöteten Lymphe die Fähigkeit, Immunität hervorzurufen, hinsichtlich des Kaninchens, fehlt. Es hieße natürlich zu weit gehen, wollte man aus diesen Versuchen ohne weiteres verallgemeinernde Schlüsse auf das Verhalten der anderen Tierspecies bzw. des Menschen ziehen. Haben doch Volk und Kraus im Vorjahre bei derartigen Versuchen, denen die Ueberlegung zugrunde liegt, daß, da bei erhitzter oder durch Galle beeinflusster Lymphe das Virus als abgetötet angenommen werden muß, das Antigen allein noch imstande sein könnte, Antikörperbildung und damit Immunität hervorzurufen, positive Ergebnisse erzielt: Sie haben in 5 Fällen eine halbe Stunde auf 58° C erwärmte Lymphe in Verdünnungen 1:50, 1:100, 1:200 Affen subkutan eingespritzt und nach 10—11 Tagen Hautimmunität erzielen können. Ähnliche Ergebnisse hatten Neufeld und v. Prowazek, indem sie mit Hühnerspirochäten, die durch taurocholsaures Natrium aufgelöst waren, Hühner immunisieren konnten.

Aus dem Gebiete der Bakteriologie schließlich ist in dieser Richtung noch die Wrightsche Typhusschutzimpfung, die auf der Immunisierung mit abgetöteten Typhusbouillonkulturen beruht, zu erwähnen.

Immerhin dürften die hier angestellten Versuche, die das Ausbleiben einer von Immunität gefolgten Antigenbeeinflussung des Kaninchens dartun, einiges Interesse beanspruchen, um so mehr, als auch bei einem weiteren Versuche, der darin bestand, daß bei einem Kaninchen, welches an der Rückenhaut mit 10 Portionen aktiver Lymphe erfolgreich geimpft und nach 16 Tagen mit der gleichen Menge durch Erhitzen inaktivierter Lymphe revacciniert wurde, eine Beeinflussung der in diesem Falle als schon vorhanden angenommenen Antikörper durch das Antigen der Lymphe, das der Voraussetzung gemäß eine Wirkung hätte entfalten müssen, durch keinerlei Reaktion (Frühreaktion!) erkennbar war.

Nachdem in den vorstehend geschilderten Versuchen die Frage der aktiven Immunisierung erörtert worden, erschien es des weiteren von Interesse, festzustellen, ob Immunkörper, die, wie wir sahen, mit Lymphe zusammengebracht, diese unwirksam zu machen imstande sind, auch, wenn sie dem Kaninchenkörper einverleibt werden, diesen gegen die Erstimpfung unempfindlich zu machen oder, mit anderen Worten, eine passive Immunität zu erzeugen vermögen. Zu diesem Zwecke wurde einem Kaninchen, das kutan mit 10 Portionen Lymphe geimpft worden war, Epithel von der Impfstelle an der Rückenhaut nach 10 Tagen abgeschabt, dasselbe in der früher erwähnten Weise behandelt und dann einem zweiten Kaninchen unter die Haut gespritzt. Als bei letzterem unter gleichzeitiger Impfung beider Hornhäute nach 10 Tagen eine kutane Impfung vorgenommen wurde, trat keinerlei Reaktion auf, während die Hornhäute ihrerseits mit Bildung der Guarnierischen Körperchen reagierten, wie sich an Präparaten von abgeschabtem Hornhautepithel erwies. Das Tier war also durch Einverleibung von Immunkörpern

gegen die kutane Impfung immun geworden. Wenn nun auch ein einzelner Versuch nicht entscheidend für die Frage der Möglichkeit passiver Immunisierung sein kann, so erschien er mir doch immerhin der Mitteilung wert.

Was die Frage der Vererbung der Immunität angeht, die hinsichtlich protozoischer Krankheiten zuerst von Kleine und Möllers bei Hundepiroplasmose erörtert worden ist und die, soweit hier bekannt, bezüglich der Vaccine noch nicht geprüft worden ist, so ist darüber hier zurzeit ein Versuch im Gange, über dessen Ausfall seinerzeit berichtet werden wird.

Wie schon eingangs erwähnt, ist die Immunität der Kaninchencornea, die im folgenden besprochen werden soll, unabhängig von der der Körperdecke des Tieres. Bevor jedoch auf die bei ihr vorliegenden Verhältnisse näher eingegangen wird, sei, da sie in besonders innigen Wechselbeziehungen zu den Guarnierischen Körperchen steht, an dieser Stelle eine kurze Bemerkung über das Wesen der letzteren eingefügt. v. Prowazek, dessen Ansicht zurzeit die Mehrzahl der Autoren, so Mühlens und Hartmann, Paschen, Schrumpf, Süpfle, Foà teilen, gibt folgende Definition für sie: „Die Guarnierischen Körperchen sind spezifische Reaktionsprodukte der erkrankten Zelle, die zum großen Teil aus einer platinartigen und dann aus einer chromatoiden Komponente bestehen, Substanzen, die den Kernstoffen zuzuzählen sind, jedoch auch im Zellprotoplasma vorkommen.“ Als Erreger, deren Einwanderung in das Epithel der Hornhaut die Bildung dieser Reaktionsprodukte auslöst, nimmt v. Prowazek die von ihm gesehenen und als Initialkörperchen bezeichneten Gebilde an. Diese Initialkörperchen sind von einer Reihe Autoren, so Paschen, Mühlens und Hartmann und anderen bestätigt worden.

Was nun die Immunität an der Cornea angeht, so tritt sie nach Paschen, v. Prowazek und anderen nach einer Impfung ein. Der Beginn des zur Immunität führenden Vorganges kennzeichnet sich durch das Auftreten der Guarnierischen Körperchen in den Epithelzellen der Hornhaut, seine Vollendung im allgemeinen durch ihr Verschwinden. Eine immune Cornea erzeugt bei Wiederimpfung Guarnierische Körperchen nicht mehr. Der Nachweis der eingetretenen Immunität wurde zuerst von Paschen geführt, der an Schnitten einer revaccinierten Kaninchencornea feststellen konnte, daß sich Guarnierische Körperchen daselbst nicht wieder gebildet hatten. Indes bezieht sich die durch Impfung erworbene Immunität der Cornea ausschließlich auf den Bereich der Impfstelle. Sie ist nach v. Prowazek streng örtlich begrenzt. Dieser Autor konnte an von der ersten Stelle der Impfung etwas entfernten Stellen derselben Hornhaut durch Wiederimpfung Guarnierische Körperchen erzeugen. So dürften sich auch die Ergebnisse von Jürgens erklären, der auf einer bereits infiziert gewesenen Hornhaut von neuem positive Impfungen erzielen konnte. Es lag nun nahe, die zeitlichen Verhältnisse dieser Immunität durch Revaccinationen näher zu prüfen. Es wurden in dieser Richtung folgende Versuche angestellt: Von 4 corneal geimpften Kaninchen wurde je eines am 5. und 14. Tage, 2 am 10. Tage mit je einer Portion Lymphe wiedergeimpft. Die Revaccination geschah genau an der Stelle der Erstimpfung. Nach 2mal 24 Stunden wurden die Augen der Versuchstiere jedesmal herausgenommen und das Ergebnis der Revaccination an Schnitten geprüft. Hierbei fand sich, daß bei der Revaccination am 5. Tage nach der Erstimpfung Guarnierische

Körperchen noch ziemlich reichlich, bei den beiden Revaccinationen am 10. Tage noch vereinzelt vorhanden waren, während sie bei der Revaccination am 14. Tage sich nicht mehr nachweisen ließen. Die naheliegendste Erklärung für dieses eigentümliche Ergebnis scheint zu sein, daß bei der geimpften Cornea Immunität, die bei Wiederimpfung das Neuauftreten von Guarnierischen Körperchen ausschließt, nicht vor einer bestimmten Frist, die nach dem 10. Tage zu liegen scheint, eintritt. Es ließe sich nun allerdings denken, daß es sich in den Fällen mit positivem Ergebnis nicht um durch die Revaccination neu erzeugte, sondern noch von der Erstimpfung zurückgebliebene, vielleicht um in aus der Tiefe nachträglich nachgerückten Epithelzellen sitzende Guarnierische Körperchen gehandelt hat. Dafür würden Befunde wie die von Wasielewski sprechen, der einmal an einer 21 Tage alten Impfstelle und bis zum 30. Tage nach der Impfung vereinzelt oder in kleinen Herden im regenerierten Epithel Vaccinekörperchen nachweisen konnte. Indes sprach in dem Fall, in welchem die Revaccination am 5. Tage vorgenommen wurde, das relativ zahlreiche Vorhandensein der Guarnierischen Körperchen für ihre Neuerzeugung gelegentlich der Wiederimpfung und in dem einen der Fälle, wo die Revaccination am 10. Tage stattfand, konnte die Annahme des Zurückbleibens Guarnierischer Körperchen von der ersten Impfung her mit einiger Sicherheit ausgeschlossen werden, da eine mit ganz geringen Mengen von Material der ziemlich umfangreichen Impfstelle kurz vor der Revaccination vorgenommene Hornhautimpfung, wie sich an Schnitten feststellen ließ, negativ ausfiel, während eine Impfung, die kurz vor der 2mal 24 Stunden nach der Revaccination erfolgten Herausnahme der Augen mit Material der Impfstelle stattfand, in Schnitten das Vorhandensein von Guarnierischen Körperchen ergab. Demnach hätte auch in dem letztgenannten Versuch eine Neuerzeugung von Guarnierischen Körperchen mit Wahrscheinlichkeit stattgefunden. Jedoch ist hier noch ein Einwand zu erheben, der sich darauf gründet, daß der vermutliche Erreger der Vaccine nicht nur in den Epithelzellen der Hornhaut, sondern auch intercellulär vorzukommen scheint. Diese Art des Vorkommens wird von v. Prowazek angenommen, der sie durch folgenden von ihm angestellten Versuch erwiesen hat: Er ließ eine mehrere Tage infiziert gewesene Hornhaut etwa 8 Stunden ausgeschnitten in einer sterilen, gut schließenden, mit feuchtem Fließpapier ausgelegten Glasdose liegen. Dabei rundeten sich nach einiger Zeit die einzelnen Epithelzellen ab, der epitheliale Verband wurde aufgegeben und die Intercellularbrücken und -Fäden wurden eingerissen — das Epithel sah dann gelockert, maulbeerförmig aus. Auf diesem Stadium konnte er durch kräftiges Schütteln viele Zellen, ohne sie zu verletzen, in ein Uherschälchen mit physiologischer Kochsalzlösung loslösen. Filtrierte er nun diese Flüssigkeit durch ein dickes, vierfach gefaltetes Filterpapier, auf dem die Zellen zurückgehalten wurden, so konnte er trotzdem mit dem Filtrat, in dem mikroskopisch Zellen nicht mehr nachweisbar waren, mit positivem Erfolge impfen. Neuerdings dürfte übrigens der direkte Nachweis dieses Vorkommens des Virus in den Intercellularen Volpino gelungen sein, der im Dunkelfeld Gebilde, die vielleicht mit den Initialkörperchen v. Prowazeks identisch sind, nicht nur im Protoplasma der Epithelzellen infizierter Hornhäute, sondern auch in den intercellulären Zwischenräumen zwischen denselben sah¹⁾.

1) Die Annahme dieses intercellulären Vorkommens des vermutlichen Erregers erklärt übrigens auch zwanglos die gelegentlich in der Literatur erwähnten positiven

Unter dem Gesichtspunkt dieses intercellulären Vorkommens des vermutlichen Erregers läßt sich nun die vorerwähnte mit kurz vor der Herausnahme der revaccinierten Hornhäute von der Impfstelle entnommenem Material erfolgte positive Impfung allenfalls auch erklären. Indes hat diese Erklärung im vorliegenden Falle gegenüber der anderen, daß das positive Impfergebnis durch die frische Infektion der revaccinierten Epithelzellen zustande gekommen, um so weniger für sich, als auch die oben erwähnte mit kurz vor der Revaccination von der Impfstelle entnommenem Material bewirkte Impfung negativ ausfiel, mithin weder Guarnierische Körperchen, noch intercelluläres Virus in diesem Falle vorhanden gewesen zu sein scheinen.

Unter Berücksichtigung des Vorstehenden könnte man sich nun die Immunitätsverhältnisse an der Kaninchencornea folgendermaßen vorstellen: Das bei der Erstimpfung der Kaninchencornea in die Epithelzellen gelangte Virus löst in denselben Bildung von Antikörpern aus. Der direkte Nachweis dieser Bildung von Antikörpern wurde von v. Prowazek in dem schon früher erwähnten Versuche, bei dem die Aktivität einer infizierten Hornhaut durch Einwirkung von Zellmaterial, das einer immunen Hornhaut angehört hatte, aufgehoben werden konnte, geliefert. Der äußere Ausdruck des Beginns dieses Vorganges ist, wie schon erwähnt, das Auftreten der Guarnierischen Körperchen, der seiner Vollendung ihr Verschwinden. Im allgemeinen wird dieser letztere Zeitpunkt nicht vor dem 10. Tage liegen und kann andererseits, wie aus den vorerwähnten Beobachtungen von Wasielewski hervorzugehen scheint, auch wesentlich später eintreten. Die Cornea, deren Immunität vollendet ist, erzeugt bei einer Wiederimpfung Guarnierische Körperchen nicht mehr. Die Immunität ist rein örtlich und nach v. Prowazeks Ausdruck histogen. Unbeschadet dieser rein cellulären Immunität kann jedoch, wie sich aus den in der Anmerkung aufgeführten Beispielen ergibt, die Cornea infolge Aufspeicherung von intercellulärem Virus, zu welchem die Antikörperbildung in den Zellen in keiner Beziehung steht, noch lange Zeit ihre Infektiosität bewahren. Sie bleibt in diesem Sinne, trotzdem ihre Zellen — im Bereich der Impfstelle — Immunität gewonnen haben, gewissermaßen Parasitenträgerin.

Die früher geschilderten Versuche der Impfung mit inaktivierter bzw. abgetöteter Lymphe legten es nahe, auch einmal zu prüfen, wie sich die Kaninchenhornhaut Impfungen und Wiederimpfungen mit abgetötetem Virus gegenüber verhält. Zu diesem Zwecke wurden je 2 Kaninchen an je einem Auge mit je einer Portion Lymphe geimpft und 14 Tage später mit der gleichen Menge Lymphe, die mit frischer Kaninchengalle zu gleichen Teilen versetzt und 24 Stunden stehen gelassen worden war, revacciniert. Gelegentlich dieser Revaccinationen wurden die entsprechenden noch freien Hornhäute mit durch Galle abgetöteter Lymphe vacciniert. Aus der Durchsicht der Schnitte, die von den 2mal 24 Stunden nach der Impfung bzw. Revaccination herausgenommenen Hornhäuten angefertigt wurden, ergab sich nun, daß bei beiderlei Impfungen Guarnierische Körperchen nicht erzeugt worden waren und auch die Reaktion des Epithels keine wesentlich stärkere war,

Ergebnisse von Impfungen mit Material, das von vor längeren Fristen infizierten Hornhäuten gewonnen wurde. So konnte v. Prowazek mit 14, v. Wasielewski mit 21, Gorini gar mit 73 Tage altem Material positiv impfen. In solchen Fristen mußte das infizierte Zellmaterial längst immun geworden sein bzw. seine Infektiosität verloren haben.

als bei mechanischen Verletzungen dieses Gewebes. Dagegen konnte bei zwei Kaninchen, welche mit durch Galle abgetöteter Lymphe an beiden Hornhäuten vacciniert und nach 2 $\frac{1}{2}$ Wochen an der Impfstelle mit gleicher Menge lebender Lymphe revacciniert worden waren, nach Herausnahme der Augen an Schnitten reichliche Bildung Guarnierischer Körperchen festgestellt werden, ein Beweis, daß Impfung mit abgetötetem Virus auch an der Cornea örtliche Immunität nicht zu erzeugen imstande ist.

Da sich zufällig Gelegenheit bot, die Wirkung der Vaccine an Huhn und Taube zu prüfen, so wurden je 3 Exemplaren dieser Tiergattungen mit je einer Portion Lymphe an beiden Hornhäuten geimpft. Es gelang bei beiden Tiergattungen nicht, typische Guarnierische Körperchen, sondern nur ganz vereinzelt Guarnierischen Körperchen ähnliche Gebilde in Cornealschnitten nachzuweisen, und ich möchte daher annehmen, daß die genannten Tiergattungen für Vaccine nicht empfänglich sind, eine Ansicht, die auch von Volk und Kraus neuerlich ausgesprochen ist.

Der über die Bedeutung der Guarnierischen Körperchen zurzeit herrschenden Auffassung ist bereits früher gedacht worden: Sie sind Reaktionsprodukte der Zelle auf das Eindringen des Virus. Wie man sich nun aber den Vorgang dieses Reagierens vorzustellen hat, ist noch völlig unklar. Da häufig die als Erreger angesprochenen Initialkörperchen in den Guarnierischen Körperchen gesehen wurden, scheint es sich dabei gewissermaßen um eine Einhüllung des Virus durch die von der Zelle gebildeten reaktiven Substanzen zu handeln. Eine dieser Arbeit beigefügte Zeichnung, nach einem Giemsa-Präparat von infizierten Epithelzellen der Hornhaut gefertigt, ist vielleicht geeignet, diese Ansicht zu stützen. Man sieht hier ein dem Kern der Epithelzelle dicht anliegendes Guarnierisches Körperchen, das eine Netzstruktur mit gleichmäßig weiten Maschen aufweist. Gelegentlich finden sich in einigen dieser Maschen kleinste Körnchen, während sie in anderen fehlen. Die Regelmäßigkeit und Helligkeit der Maschen scheint dafür zu sprechen, daß in ihnen noch kleinste, von irgend welchen Substanzen mehr oder weniger umhüllte und deshalb teils nicht, teils nur wenig färbbare Gebilde — vielleicht die Initialkörperchen — enthalten sind. Das Guarnierische Körperchen wäre dann gleichsam mit einem Schwamm zu vergleichen, der in seinen Höhlungen die Erreger birgt.

Was die Initialkörperchen selbst angeht, so konnten sie bisher, wie schon erwähnt, häufig in den Guarnierischen Körperchen, gelegentlich im Kern, nur selten im Protoplasma an Ausstrichpräparaten und in Schnitten gesehen werden. Neuerdings hat sie Volpino in den abgeschabten Epithelzellen der Hornhaut nach einem besonderen Verfahren, bestehend in 24-stündiger Färbung, mit stark verdünnter Giemsa-Lösung nach feuchtem Fixieren in absolutem Alkohol in größerer Menge im Protoplasma sichtbar machen können. Seine Befunde konnten hier bestätigt werden. In nach Gram gefärbten Schnitten von infizierten Hornhäuten unter Nachfärbung mit Orange konnten hier übrigens in letzter Zeit zahlreiche kleinste violette Körnchen beobachtet werden und zwar sowohl im Protoplasma wie in den Guarnierischen Körperchen. Da indes die Möglichkeit kleinster Niederschläge, die bei diesem Verfahren so überaus häufig beobachtet werden, nicht unbedingt auszuschließen war, so mußte auf ihre Deutung als Initialkörperchen zunächst

verzichtet werden. Weitere Versuche sollen in dieser Richtung jedoch angestellt werden. Der Nachweis der Initialkörperchen im frischen Präparat wurde zuerst von v. Prowazek geliefert, der sie in einzelnen Fällen in den Guarnierischen Körperchen als alveolenartige Einschlüsse in lebhafter Bewegung sah. Der schon früher erwähnte Befund Volpinos im Dunkelfeld ist hier mehrfach zu erheben versucht worden. Dabei konnten hier in wenigen Fällen am Zellkern der infizierten Epithelzellen Anhäufungen kleinster Körnchen, jedoch an diesen nur ganz vereinzelt Eigenbewegung der letzteren gesehen werden, während in der freien Flüssigkeit der mit physiologischer Kochsalzlösung in Paraffin eingeschlossenen Präparate häufiger kleinste, sich lebhaft bewegende Körnchen beobachtet wurden. Die Guarnierischen Körperchen, über deren Sichtbarmachung im Dunkelfeld Volpino Angaben nicht macht, wurden hier einige Male als spärlich beleuchtete, mit scharfem Kontur versehene Gebilde am Kern liegend gefunden.

Die wichtige Frage, wie man sich etwa die Einwanderung und Fortbewegung der Initialkörperchen in der Kaninchenhornhaut vorzustellen hat, wurde an folgenden Versuchen geprüft: Bekanntermaßen sinkt in Lecithinemulsionen, wenn sie längere Zeit stehen gelassen werden, das Lecithin zu Boden. Es wurden nun in je einem Reagenzglas gleiche Mengen einer Lecithinemulsion und physiologischer Kochsalzlösung mit den gleichen Mengen aktiver Lymphe vermischt und 24 Stunden stehen gelassen. Dann wurden bis zur halben Höhe der Flüssigkeitssäule eingetauchte Oesen des Gemenges corneal verimpft. Hierbei ergab sich in Schnittpreparaten, daß die Impfung mit Material der Lecithinemulsion negativ, diejenige mit solchem der Kochsalzlösung jedoch positiv ausgefallen war. Es ging daraus hervor, daß im ersteren Falle das Virus der Lymphe mit dem Lecithin, zu dem es also zweifellos eine gewisse Verwandtschaft besitzt, zu Boden gesunken war. In ähnlicher Weise läßt sich die Verbreitung des Virus in die lecithinhaltigen Epithelzellen der Hornhaut hinein als ein durch die Verwandtschaft der Substanzen bedingtes Hineingleiten oder -strömen denken. Ein eigentümliches Ergebnis hatte ferner ein Versuch, dem die Frage der Verbreitung des Virus nach Impfung unter die Haut des Kaninchens zugrunde lag. Es wurde bei einem Kaninchen 24 Stunden nach subkutaner Impfung mit aktiver Lymphe an der Impfstelle subkutane Gewebsflüssigkeit angesaugt und corneal verimpft. Die von der geimpften Hornhaut hergestellten Schnitte ergaben, daß sich Guarnierische Körperchen nicht gebildet hatten, die Gewebsflüssigkeit mithin Virus nicht mehr enthalten haben konnte. Es lassen sich für dieses Ergebnis zwei Erklärungen geben: Entweder war das Virus in der erwähnten Frist in den allgemeinen Kreislauf übergegangen, was jedoch äußerst unwahrscheinlich ist, wenn man in Betracht zieht, daß mit Material von inneren Organen fast niemals positive Impfergebnisse erzielt werden konnten, oder es hatte eine überaus schnelle Verankerung des Virus in den Zellen der Haut stattgefunden. Die letztere Möglichkeit ist meines Erachtens die wahrscheinlichere.

Zum Schlusse seien mir noch einige Bemerkungen über das Verhalten des Virus gegenüber protozoentötenden Substanzen gestattet. Bekannt ist, daß gasförmige Säure, Essig, Ammoniak, starke Salzlösungen, reiner Alkohol und Kaninchengalle das Vaccinevirus abzutöten vermögen. Es lag nahe, die Wirkung einiger anderer Substanzen, und zwar spezifischer Protozoengifte, auf das Vaccinevirus festzustellen. Als solche

wurden Abrin, Ricin und Saponin gewählt. Die Versuche wurden derart angestellt, daß 3 Kaninchen an beiden Hornhäuten mit je einer Portion Lymphe geimpft wurden, die mit je 1 mg Abrin bzw. Saponin bzw. Ricin verrührt und 24 Stunden stehen gelassen worden war. An den Schnitten der 2mal 24 Stunden nach der Impfung herausgenommenen Hornhäute fand sich in allen Fällen starke Reaktion. Guarnierische Körperchen fanden sich an den Hornhäuten, die mit durch Saponin beeinflusster Lymphe geimpft waren, sie fehlten dagegen an den anderen Hornhäuten. Es ergibt sich daraus, daß Abrin und Ricin in Mengen von 1 mg Lymphe bei 24-stündiger gegenseitiger Einwirkung abzutöten vermögen, während dem Saponin unter gleichen Bedingungen diese Fähigkeit zu fehlen scheint.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Dr. v. Prowazek für die Anregung zu den in vorstehender Arbeit niedergelegten Versuchen, sowie für die mir bei ihrer Ausführung erteilten Ratschläge meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Zusammenfassung.

1) Die Immunisierung des Kaninchens durch kutane Impfung mit aktiver Lymphe ist möglich.

2) Die Immunisierung des Kaninchens durch subkutane Impfung mit aktiver Lymphe ist möglich.

3) Eintritt von Immunität konnte nach subkutaner Impfung mit inaktivierter bzw. abgetöteter Lymphe beim Kaninchen nicht festgestellt werden.

4) Eine passive Immunisierung des Kaninchens gegen Impfungen mit aktiver Lymphe durch subkutane Einverleibung von Immunkörpern scheint möglich zu sein.

5) Immunität der Kaninchenhornhaut tritt nach Impfung mit lebender Lymphe ein, während sie nach Impfung mit abgetöteter Lymphe ausbleibt. Sie pfl egt nicht vor dem 10. Tage nach der Impfung vollendet zu sein. Sie ist auf die Impfstelle beschränkt, und zwar an die Epithelzelle als solche gebunden. Das in den intercellulären Räumen etwa aufgespeicherte Virus steht nicht in Beziehungen zum Immunisierungsvorgang. Das intercelluläre Vorkommen des Virus erklärt es, daß eine Hornhaut, wiewohl immun, doch ihre Infektiosität behalten kann.

6) Abrin und Ricin töten das Virus der Lymphe ab, während dem Saponin diese Fähigkeit zu fehlen scheint.

Literatur.

- 1) Alexander, Ueber Vaccineerkrankungen des Auges. (Münch. med. Wochenschrift 1906.)
- 2) Ballah, Notes upon experiments with vaccine lymph. (Brit. med. Journ. 1906.)
- 3) Blochmann, Ist die Schutzpockenimpfung mit allen notwendigen Kautelen umgeben? Tübingen 1904.
- 4) Bonhoff, Ueber Lapine. [Vortrag im ärztlichen Verein zu Marburg am 16. Jan. 1907.] (Münch. med. Wochenschr. 1907.)
- 5) Gorini, Ueber die bei den Hornhautvaccineherden vorkommenden Zelleinschlüsse. [3. vorläufige Mitteilung, Anhang.] (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. 1902.)
- 6) Groth, Vaccine und Ekzem. [Vortrag bei der 3. Landesversammlung der bayerischen Medizinalbeamten. Nürnberg 1906.] (Beilage zur Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1906.)
- 7) Jürgens, Ueber die diagnostische und ätiologische Bedeutung der Variolakörperchen. (Charité-Annalen. Jahrg. XXIX.)

- 8) Kissling, Zwei Fälle von generalisierter Vaccine nach Uebertragung der Vaccine auf ein chronisches Gesichtsekzem. (Jahrb. d. Hamburger Staatsanstalten. Bd. VIII.)
- 9) Knöpfelmacher, Versuche über subkutane Injektion der Vaccine. (Mitteilung in der Sektion f. Kinderheilkunde der 78. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte. Stuttgart 1906.)
- 10) Kraus und Volk, Studien über Immunität gegen Variolavaccine. Experimentelle Begründung einer subkutanen Schutzimpfung mittels verdünnter Vaccine. (Aus den Sitzungsberichten der Kais. Akad. d. Wiss. in Wien. Mathem.-naturw. Kl. Bd. CXVI. Abt. 3. Mai 1907.)
- 11) Kleine und Möllers, Ueber ererbte Immunität. (Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. LV. 1906.)
- 12) Mühlens und Hartmann, Zur Kenntnis des Vaccineerregers. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLI. 1906.)
- 13) Nobl, Ueber das Schutzvermögen der subkutanen Vaccineinsertion. (Wien. klin. Wochenschr. 1906.)
- 14) v. Prowazek, Untersuchungen über die Vaccine 1—3. (Arb. aus d. Kais. Gesundheitsamt. 1905, 1906, 1907.)
- 15) — und Neufeld, Ueber die Immunitätserscheinung bei der Spirochätenseptikämie der Hühner und über die Frage der Zugehörigkeit der Spirochäten zu den Protozoen. (Arb. aus d. Kais. Gesundheitsamt. 1907.)
- 16) v. Pirquet, Klinische Studien über Vaccination und vaccinale Allergie. Leipzig und Wien 1907.
- 17) Paschen, Medizinalstatistische Mitteilungen des Kais. Gesundheitsamts. 1903.
- 18) Süpfle, Beiträge zur Kenntnis der Vaccinekörperchen. [Inaug.-Diss.] Heidelberg 1905.
- 19) Schrumpf, Ueber die als Protozoen beschriebenen Zelleinschlüsse bei Variola. [Inaug.-Diss.] Berlin 1905.
- 20) Volpino, Der Kuhpockeninfektion eigentümliche bewegliche Körperchen im Epithel der Kaninchencornea. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLVI. 1908.)
- 21) Wright, A short treatise on anti-typhoid inoculation. Westminster 1904.
- 22) De Waele und Sugg, Experimentelle Untersuchungen über die Kuhpockenlymphe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIX. 1905.)
- 23) v. Wasielewski, Beiträge zur Kenntnis des Vaccineerregers. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1901.)
- 24) Lublinski, Accidentelle Vaccination der Nasenschleimhaut. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 52.)

Nachdruck verboten.

Ueber antitoxisches und antimikrobisches (bivalentes) Diphtherieserum.

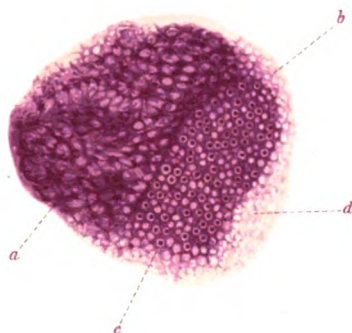
Von Prof. S. Belfanti,

Direktor des serotherapeutischen Instituts in Mailand.

Die Frage über die Unwirksamkeit des antitoxischen Diphtherieserums bei gewissen schweren Formen der Diphtherie wurde zuerst in Frankreich aufgeworfen, und zwar durch Roux und Martin, bei welchen die Klage mehrerer Aerzte, denen es schien, es hätte der Heilwert des Diphtherieserums mit der Steigerung seines antitoxischen Wertes abgenommen, bedenkliche Zweifel erweckte.

Die langsame Ablösung der Membranen bei mit hohen Serumdosen behandelten Patienten ließ vielfach darauf schließen, daß die Heilkraft des Serums nicht im Verhältnis zu dem nach Ehrlich auf antitoxische Einheiten (IE.) berechneten Immunisierungswert desselben steht; diese wäre vielmehr an infektiöswidrige Substanzen des Serums gebunden, deren Wirkung nicht gegen das Diphtheriegift selbst, sondern direkt gegen das Bakterium und dessen Virulenz gerichtet sei.

Um beim Kranken wirksam zu sein, müßte nach den genannten Ver-



Infizierte Hornhautepithelzelle, nach Giemsa
gefärbt.

- a) Kern.
- b) Guarnierisches Körperchen.
- c) Masche mit kleinen Körperchen (vielleicht Initialkörperchen).
- d) Protoplasma der Epithelzelle.

fassern der antitoxischen Serumtherapie auch eine infektiionswidrige oder antimikrobische Tätigkeit innewohnen.

Von diesem Gesichtspunkte geleitet, machten Roux und Martin auf dem internationalen Kongreß für Hygiene zu Brüssel den Vorschlag, eine Kommission sollte sich zur Aufgabe stellen, zu ergründen, ob es möglich wäre, ein Diphtherieserum nicht allein auf seinen antitoxischen Gehalt (IE.) zu prüfen, sondern auch dessen Heilwert festzustellen.

Zu diesem Zwecke schlugen sie eine spezielle Methode vor, welche darin besteht, einer Serie von Meerschweinchen Diphtheriebacillen einzuverleiben, deren Virulenz in 36—40 Stunden den Tod der Tiere herbeiführt.

Ein Teil der Tiere dient zur Kontrolle; die übrigen werden von der 8. Stunde an mit verschiedenen Dosen Diphtherieserum behandelt.

Als hinreichend wird der Wert des Serums bezeichnet, wenn $\frac{1}{10}$ ccm desselben imstande ist, in solchen Verhältnissen bei 300 g schweren Tieren ohne Gewichtsabnahmen und ohne Schorfbildung die Heilung zu bewirken.

Die von Roux angeführten Schlußfolgerungen lauten:

1) Die Titrierung des Diphtherieserums muß die Wertbestimmung des Antitoxins sowohl als die des antimikrobischen Vermögens umfassen.

2) Das Antitoxin wird more solito nach der Ehrlichschen Methode abgeschätzt.

3) Eine Kommission wird beauftragt, ein geeignetes Verfahren zur Wertbestimmung des antimikrobischen Vermögens zu studieren.

Da auch ich zum Mitglied dieser internationalen Kommission ernannt wurde, sah ich mich genötigt, mich an die Lösung des Problems zu wagen. Ich berichte hier über die Ergebnisse meiner, obgleich nicht gänzlich beendeten Studien.

Aus den Berichten von Roux und Martin geht hervor, daß sie dem Diphtheriebacillus eine doppelte Wirkung im Kranken zuschreiben: Die eine vermittelt der löslichen, nunmehr unbestrittenen Toxine, welche durch das allgemein bekannte antitoxische Diphtherieserum siegreich bekämpft wird, die zweite vermöge des Bakteriums selbst, sei es in Betracht seiner Lebensfähigkeit, d. h. seiner Virulenz, oder sei es vermittelt seiner Endotoxine, welche mit den löslichen Esotoxinen nichts gemein haben. Dieser gegenüber wäre das antitoxische Serum nutzlos, es verursache sogar einen gewissen Prozentsatz von Todesfällen und könne unter Umständen auch Spätparalysen hervorrufen.

Die Lösung der Frage, ob sich die Bereitung eines Diphtherieserums ermöglichen ließe, das sich gegen den Bacillus selbst, d. h. gegen seine Lebensfähigkeit oder seine Endotoxine richtet, wurde somit zur Aufgabe ernster Untersuchungen, und dies um so mehr, als Martin die Ansicht äußerte, es sei die Ablösung der Membranen beim Heilungsprozeß der Diphtherie dem antimikrobischen Vermögen des Serums zuzuschreiben.

Es gilt nunmehr als eine allgemein anerkannte und unbestrittene Tatsache, daß das Diphtherieserum, selbst wenn es mit Bacillenleibern hergestellt wird, nicht bakterizid im wahren Sinne des Wortes genannt werden kann: Wir können uns bei demselben nicht auf den Wirkungsmechanismus der bakteriolytischen Sera berufen, können daher auch nicht im Sinne Ehrlichs den Mechanismus zwischen Ambozeptor und Komplement annehmen. Falls ein antimikrobisches Vermögen existiert, müßte es auf eine andere Weise klargestellt werden.

Es ist vor allem festzustellen, ob dem Diphtheriebacillus eine toxische Substanz innewohnt, gegen welche das gewöhnlich verwertete Diphtherieserum sich unwirksam zeigt, weil dieselbe von dem löslichen Toxin verschieden wäre.

Das Vorhandensein eines solchen, von dem löslichen Gifte verschiedenen Toxines wurde bereits von Kossel (1) in Abrede gestellt, welcher beobachtete, daß das aus gewaschenen Bacillenleibern gewonnene Gift die Meerschweinchen in gleicher Weise tötete und bei denselben den gleichen anatomischen Befund ergab, wie dies mit dem löslichen Gift der Fall war. Nach dem genannten Verfasser weist das Protoplasma gut gewaschener Bakterienleiber nur einen starken Gehalt an Diphtherietoxin auf.

Auch Murillo (2) nimmt an, der Bacillenleib enthalte eine große Menge von Toxin, welches mit Hilfe gewisser Methoden noch extrahiert werden könne.

Für diese beiden Verff. ist das aus den Bakterienleibern gewonnene Toxin dem Diphtherietoxin entsprechend; es läßt sich daher mit antitoxischem Diphtherieserum neutralisieren.

Brieger und Boer (3) sollte es nach Extrahierung des löslichen Giftes mit den gewöhnlich gebrauchten Methoden gelungen sein, in den Leibern der Diphtheriebacillen eine unlösliche, für Meerschweinchen von 500 g bei einer Dosis von 0,01 g toxisch und nekrotisierend wirkende Substanz nachzuweisen, gegen welche das Diphtherieserum wirkungslos sein sollte.

Diese Substanz sollte selbst nach einstündigem Kochen ihre nekrotisierende Eigenschaft nicht einbüßen.

Selbstverständlich ist dieses Gift sehr verschieden von dem, welches wir gewöhnlich mit dem Namen Endotoxin oder Bakterioplasmin bezeichnen.

Das durch Wassermann (4) mit Aethylendiaminlösung und nach der von Aronson (5) gebrauchten Methode aus den Bacillenleibern gewonnene Gift scheint einfach in die Lösung übergegangenes Diphtherietoxin zu sein; tatsächlich sagt ja Verf. selbst, daß 1–3 ccm dieser Lösung in Kaninchen oder Meerschweinchen den Tod durch akute Diphtherievergiftung bewirken.

Alle diese Untersuchungen beweisen uns daher keineswegs das Vorhandensein eines Endotoxins in den Leibern der Diphtheriebacillen.

Eine Arbeit, welche am ehesten auf die Anwesenheit eines wirklichen Bakterioplasmins mit sicheren toxischen Eigenschaften im Diphtheriebacillus schließen ließe, ist jene von Rist (6), erschienen im Jahre 1903.

In derselben gibt Verfasser an, daß die Leiber der Diphtheriebacillen ein Gift enthielten, welches nach Einführung von ca. 0,01 g in Meerschweinchen oder Kaninchen den Tod durch Paralyse, Bauchfellentzündung, Myocarditis und Kachexie herbeiführe, ein Krankheitsbild, welches dem gewöhnlich durch das Diphtherietoxin erzeugten nicht gleichkommt.

Verfasser nimmt an, es seien die Phänomene der Paralyse dem Gifte der Bakterienleiber zuzuschreiben, auf welche letzteren das normale Diphtherieserum keine Wirkung ausüben könne.

Von besonderer Wichtigkeit sind die anaphylaktischen Charaktere, welche Rist in seinen Untersuchungen den Bacillensubstanzen zuschreibt: Ein Meerschweinchen, das eine erste Einführung derselben gut verträgt,

unterliegt der nach einigen Tagen wiederholten Behandlung, ohne daß das Serum imstande wäre, das Tier zu retten.

Eine experimentelle Bestätigung der Befunde Rists würde uns vielleicht ermöglicht haben, die Neutralisierung dieser Toxine vermittelt eines mit Bakterienleibern bereiteten Serums zu versuchen; sie hätte vielleicht vermocht, uns Anhaltspunkte über den Wert dieser, gegen die protoplasmatische Substanz der Bacillenleiber und demnach gegen ihre Lebensfähigkeit und Virulenz gerichteten Sera zu geben.

Leider vermochten die diesbezüglichen zahlreichen Nachprüfungen nicht, uns die Bestätigung für das Vorhandensein dieser Endotoxine zu liefern.

Die zu meinen Untersuchungen dienenden Bacillenleiber entstammten einer Nährbouillon, wie sie gewöhnlich zur Bereitung der Toxine verwendet wird; sie wurden auf dem Filter angesammelt, mehrmals und bis zum Verschwinden der Biuretreaktion gewaschen, mit Aceton abgetötet und endlich getrocknet und im Mörser pulverisiert.

Zur Abtötung bediente ich mich des Acetons, weil dieses Reagensmittel das Protoplasma nicht sporentragender Bakterien (bei Sporen ist seine Verwendung nicht angezeigt) abtötet, ohne dabei deren fermentative Eigenschaften im geringsten zu beeinträchtigen. Es ist ja bekannt, daß das Aceton die Zymase nicht alteriert und daß es ebenso die dem Protoplasma der Diphtheriebacillen anhaftende Katalase, ein äußerst labiles Ferment, nicht im mindesten schädigt.

Die zahlreichen Beobachtungen, welche ich mit so behandelten Bacillenleibern an Meerschweinchen anstellte, konnten mich keineswegs von Rists Meinung überzeugen, nach welcher dieselben im Tiere charakteristische toxische Erscheinungen auslösen, und sie anaphylaktisch machen sollten.

In einer großen Anzahl von Meerschweinchen vermochte die wiederholte Einführung von 0,02 g Bacillenemulsion in das Peritoneum weder den Tod noch sonstige spezifische Erscheinungen herbeizuführen; man erzielte höchstens Geschwüre an der Injektionsstelle, falls die Emulsion, statt ins Peritoneum, unter die Haut gegeben wurde.

In den Versuchsreihen erlagen auch mehrere Meerschweinchen der Injektion; in solchen Fällen jedoch ergab der nekroskopische Befund unleugbare Anzeichen der charakteristischen Diphtherievergiftung, da jedenfalls die Bacillenleiber bei der Waschung ihr lösliches Gift nicht gänzlich abgegeben hatten.

Da sich also in den Diphtheriebacillen mit den gewöhnlich gebrauchten Methoden eine endotoxische Substanz **nicht** deutlich nachweisen läßt, ist es nicht denkbar, dieselbe zur Kontrolle des antibakteriellen Diphtherieserums zu verwerten.

Da die Wertbestimmung der antimikrobischen Wirkung weder mittelst der Bakterizidie, noch durch Neutralisierung der Endotoxine ausgeführt werden kann, so muß sie notgedrungen mit einer der indirekten, gegenwärtig in Gebrauch stehenden Methoden versucht werden.

Man könnte demnach untersuchen, ob das betreffende Serum in vitro eine jener Sensibilisierungsvermögen besitzenden Substanzen aufweist, welche im hämolytischen System eine Komplementablenkung anzuregen vermag, oder durch deren Einwirkung die Diphtheriebacillen zur Phagocytose vorbereitet werden.

Wir wollen die beiden Methoden in Erwägung ziehen, um für jede einzelne deren Wert festzustellen.

Die Vorbehandlung der Serum liefernden Pferde, welche mittelst Toxin oder besser nur mit Diphtheriebacillen bewerkstelligt wird, sollte uns theoretisch ein Serum liefern, das nicht allein gegen das Toxin, sondern auch gegen das Protoplasma der Bakterien gerichtet ist.

Während mit Hilfe der klassischen Methode Ehrlichs der antitoxische Wert eines Serums leicht bestimmt werden kann, fällt hingegen die Wertbestimmung des antibakteriellen Vermögens ungemein schwer, und dieses, wie wir bereits sahen, aus Mangel an einem Endotoxin. Wir müssen bei dieser Untersuchung gleichsam blindlings vorwärtzstreben versuchen, und uns begnügen, festzustellen, ob gegenüber den, mit den Bakterienleibern eingeführten Antigenen irgend ein Antikörper vorhanden sei.

Schon Martin (7) beobachtete in gewissen Seris eine spezifische sensibilisierende Substanz, welche sich an die Bakterienleiber heftete. Lambotte (8) gewann aus mit Diphtheriebacillen vorbehandelten Kaninchen ein Serum, das eine spezifische sensibilisierende Substanz enthielt.

Bandi (9) war der erste, welche aus einer mit Diphtheriebacillen immunisierten Ziege ein Serum gewann, das ein spezifisches Sensibilisierungsvermögen besaß, welches letzteres gerade durch die Komplementablenkung im hämolytischen System nachgewiesen wurde.

Die Fixierungsreaktion von Bordet-Gengou soll demnach anzeigen, daß sich in dem mit Diphtheriebacillen zubereiteten Serum eine fixierende Substanz bildet, was für viele Forscher als Anzeichen seines antimikrobischen Vermögens aufgefaßt wird.

Wenn man auch, wie es in der Regel geschieht, annehmen will, daß durch Einführung der gesamten, im Diphtheriebacillus enthaltenen Substanzen im Organismus die Bildung spezifischer Antikörper angeregt wird, so ist dennoch die Komplementablenkung, welche deren Vorhandensein anzeigt, nicht hinreichend, um uns zu der Ueberzeugung zu bringen, daß der gebildete Antikörper wirklich eine antiendotoxische Substanz sei.

Die Untersuchungen Besredkas (10) über Antistreptokokkenserum beweisen, daß ein spezifisch aktives Serum auch nur Spuren einer fixierenden Substanz seinem erzeugenden Mikroorganismus gegenüber besitzen kann und daß zuweilen selbst kein Parallelismus zwischen der Schutzkraft eines Serums und dessen Gehalt an sensibilisierenden Substanzen besteht.

In einer vor kurzem erschienenen, gerade den Diphtheriebacillus betreffenden Arbeit berichtet Cruveilhier (11) über ein Serum, das er infolge andauernder Immunisierung mit lebenden Bacillen aus dem Kaninchen gewann; dasselbe entbehrte gänzlich oder doch größtenteils der antitoxischen Einheiten (1 ccm war nicht imstande, das Meerschweinchen vor der tödlichen Dosis zu schützen) und besaß außerdem keinen therapeutischen Wert gegen den Bacillus, gegen welchen das Kaninchen immunisiert war.

Dessenungeachtet besaß das genannte Serum neben den Agglutininen auch deutlich erkennbare fixierende Substanzen dem erzeugenden Mikroorganismus gegenüber.

Uebrigens haben nach Lambotte (12) die sensibilisierenden Substanzen des Diphtheriebacillus eine nicht unerhebliche Affinität mit den avirulenten Pseudodiphtheriebacillen.

Die spezifischen sensibilisierenden Substanzen, welche dem mit Bacillen zubereiteten Diphtherieserum innewohnen, sind daher nicht ausreichend, um das Vorhandensein von immunisierenden, zum Kampfe nötigen Substanzen festzustellen.

Mehr geeignet für die Zwecke dieser Untersuchungen scheint uns die Methode der Opsonine nach Wright oder der Bakteriotropine nach Rimpau-Neufeld.

Bandi (13) gibt in der Tat an, daß das antimikrobische Serum, mit welchem er die Diphtheriebacillen sensibilisiert, im Tiere eine bedeutend kräftigere Phagocytose hervorzurufen vermag, als das bei nicht sensibilisierten Bacillen der Fall ist. Derselbe Verfasser bestätigt, daß der auch normal im menschlichen Blutserum und im Serum verschiedener Tierarten vorkommende opsonische Index in mit Bacillen zubereiteten Seris weit höher ist, als im antitoxischen Serum.

Wright hingegen, der den Wert der Opsonine auf jeden einzelnen pathogenen Mikroorganismus feststellt, schließt den Diphtheriebacillus, als nicht zu diesem Gesetz gehörend, von seiner Einteilung gänzlich aus.

Meine früheren Untersuchungen (15) zeigten mir, daß sich im normalen Meerschweinchen den Diphtheriebacillen gegenüber eine kräftige Phagocytose bewerkstelligt. Die damals gebrauchte Methode war folgende: Man machte am Ohr des Meerschweinchens subkutan eine Sacktasche, führte nach vorhergehender Desinfektion eine kleine Oese Bacillenpatina ein, verschloß die Sacktasche mit Kollodium und untersuchte nach einigen Stunden die von den Diphtheriebacillen aufgefressenen Leukocyten.

Was im Meerschweinchen subkutan vor sich geht, das ereignet sich auch *in vitro* mit den gewaschenen Leukocyten, weshalb den Opsoninen wenig zu tun bleibt, um die Diphtheriebacillen zur Phagocytose vorzubereiten.

Alle diese Methoden lassen uns demnach in völliger Unklarheit über die Art und Weise, nach welcher der antimikrobische Wert eines mit Bacillen hergestellten Diphtherieserums festgestellt werden könnte. Wie aus den bisher veröffentlichten Untersuchungen zu schließen ist, ist es sogar keiner gelungen, in diesem Serum jene neuen immunisierenden Substanzen klarzulegen, welche wir, auf Grund eines theoretischen Konzeptes, so leicht erhalten zu können hoffen.

Natürlich liegt es mir fern, den klinischen Wert beurteilen zu wollen, den ein solches antimikrobisches und antitoxisches oder, um die Benennung Bandis zu gebrauchen, bivalentes Serum im Kranken zu entfalten vermag; es wurde dieses Argument von Mya (16), Concetti (17) und deren Mitarbeitern behandelt.

Wenn aber auch das mit Bacillen hergestellte Serum den daran geknüpften Hoffnungen experimentell nicht Genüge zu leisten vermochte, so besteht doch immerhin die Tatsache, auf welche gestützt Roux für jene Zubereitung einstand, die Tatsache nämlich, daß ein an Antitoxinen reiches Serum nicht darum am wirksamsten bei der Heilung ist, und daß die Titrierung des Antitoxins zur genauen Angabe der Wirksamkeit eines Serums nicht hinreicht.

Roux verlangt, daß dem antitoxischen Werte auch die Kenntnis der Schutzkraft, oder, besser gesagt, des therapeutischen Wertes zur Seite gestellt werde.

Auf dem internationalen Kongreß für Hygiene im Jahre 1900 wurde Roux zugunsten seiner Thesis folgender Beweis vorgelegt:

Von zwei, nach der Methode Ehrlichs auf antitoxische Einheiten titrierten Seris kann das minderwertig titrierte einen gleichen, zuweilen selbst einen höheren prophylaktischen Wert besitzen, als das höchstwertige.

Diese Meinung wurde von Momont (18) und Danysz auf Grund ihrer Untersuchungen an Meerschweinchen unterstützt; sie fand jedoch in Ehrlich einen Gegner, welcher, nachdem er durch Marx die besagten Untersuchungen nachprüfen ließ, neuerdings behauptete,

daß der Vorbeugungs- und Heilungswert eines Diphtherieserums im direkten Verhältnis zu seinem Gehalt an Immunisierungseinheiten stünde.

Auf dem internationalen Kongreß für Hygiene zu Brüssel im Jahre 1903 kam, wie wir sahen, Roux (19) von neuem auf jene Frage zurück, und Cruveilhier (22), gestützt auf seine neueren Untersuchungen, schloß folgendermaßen:

Der Heilwert eines Serums hängt nicht ausschließlich von seinem Gehalt an Immunisierungseinheiten ab;

die Titrierung des Antitoxins, nach Ehrlichs Methode, so wie sie gegenwärtig ausgeführt wird, ist zur genauen Bestimmung der Wirksamkeit eines Serums nicht ausreichend;

es kann dieselbe durch den sogenannte therapeutischen Wert genauer abgeschätzt werden.

Bei den von Cruveilhier angegebenen Untersuchungen hatten tatsächlich gewisse, stark antitoxische Sera eine geringere Heilkraft auf mit Kulturen von Diphtheriebacillen infizierte Meerschweinchen, als andere weniger Antitoxin enthaltende.

Infolgedessen äußert Verfasser, daß man bei Verwendung einer gleichen Dosis und nach Gebrauch eines beliebigen Bacillus mit Sera von je 200 und 500 Einheiten (IE.) Resultate erhält, welche beinahe in allen Fällen zugunsten des weniger Antitoxin enthaltenden Serums ausfielen.

So ergaben z. B. 20 antitoxische Einheiten eines Serums zu 200 bessere Resultate, als 50 Einheiten eines auf 500 IE. titrierten.

Andere Ergebnisse erbrachten die Untersuchungen von Marx, welcher, nach Einführung einer einfach tödlichen Toxindosis, in 3—4 Tagen einen exakten Parallelismus zwischen den verschiedenen, in einer Dosis von 0,016 IE. zu prophylaktischen Zwecken ins Peritoneum gegebenen Sera erzielte.

Derselbe Parallelismus besteht ebenfalls, wenn diese Sera zu Heilzwecken, 6 Stunden nach der subkutan ausgeführten Intoxikation, in einer Dosis von 0,01 IE. ins Peritoneum eingeführt werden.

Cruveilhier bediente sich bei seinen Nachprüfungen verschiedener Stämme von Diphtheriebacillen, deren Virulenz in seiner Arbeit leider nicht zu Protokoll gebracht ist; sie wurden bei der Wertbestimmung der prophylaktischen Wirkung in einer Dosis von $\frac{3}{10}$ ccm der Kultur verwendet, und erzeugten in 36—48 Stunden den Tod. Das Serum führte man hingegen 24 Stunden früher (es fehlt auch hier die Angabe, ob subkutan oder intraperitoneal) in einer Dosis von 0,2—0,5 IE. ein.

Bei der Wertbestimmung der Heilwirkung wurde zur Infizierung $\frac{1}{4}$ einer frischen Agarkultur im Reagensglas herangezogen, welche das Meerschweinchen gewöhnlich in 96 Stunden tötete; von der 2. bis zur 16. Stunde wurde hierauf das Serum in einer Dosis von $\frac{1}{10}$ ccm oder von

20—50 IE., je nach dem Titer, eingespritzt. Die Anwendung verschiedener Sera bei der angegebenen Dosis erwies sich bis zur 8. Stunde wirksam. Jedoch auch hier, wie bei der prophylaktischen Behandlung, zeigte sich häufiger ein tödlicher Ausgang bei mit höchstwertigen Sera behandelten Tieren.

Der ausgesprochene Gegensatz zwischen den von Marx und Cruveilhier erzielten Resultaten hat seinen Grund zweifelsohne in der verschiedenen Art und Weise, in welcher die Untersuchungen ausgeführt wurden.

Während Marx die Versuchstiere mit einer festgestellten, stets gleichen Dosis Diphtherietoxin vergiftete, erzeugte Cruveilhier die Infektion mit Diphtheriebacillen, indem er ohne weiteres annahm, daß ein nach gleichem Zeitraum erfolgter Tod auch ein und dieselbe Toxinbildung bedinge.

Aus diesem Grunde sind die beiden Versuchsreihen nicht miteinander vergleichbar und stehen zueinander nur in scheinbarem Widerspruch.

Die von Cruveilhier erzielten Resultate scheinen beweisen zu wollen, daß die natürliche Infektion durch Diphtheriebacillen, so wie sie im Menschen zu erscheinen pflegt, gewisse Substanzen mit sich führt, zu deren Neutralisierung ein hochwertig antitoxisches Serum nicht ausreicht. Ein minderwertiges Serum hingegen könne vermutlich außer dem Antitoxin noch andere Elemente aufweisen, welche es vermögen, das Tier besser zu schützen und zu heilen, wenn man nicht annehmen will, es habe ein minderwertiges Serum eine größere Fähigkeit, sich an das Toxin zu binden, wie aus den Untersuchungen von Kraus und Doerr (20) zu schließen wäre. Diese Verfasser nehmen an, es könne, wie bei der bacillären Dysenterie, ein antitoxisches Serum wohl ein Neutralisierungsvermögen *in vitro* besitzen, aber dennoch keine Heilkraft im Tiere ausüben, selbst wenn es nur 15 Minuten nach der Intoxikation eingeführt wird. Die benannten Verfasser glauben, es bestünde zwischen der Antitoxinmenge und der Heilkraft kein Verhältnis. Der therapeutische Wert eines Serums hänge vielmehr von der Avidität ab, mit welcher sich das antitoxische Serum an das Gift bindet. Kraus (21) spricht demnach die Meinung aus, es solle diese Avidität auch beim Diphtherieserum vermöge einer besonderen Methode kontrolliert werden.

Eine solche Voraussetzung findet aber bezüglich der Heilung der Diphtherie einen Widerspruch in den Untersuchungen von Marx, welcher bei eine Stunde nach der Intoxikation mit Serum behandelten Kaninchen einen vollkommenen Parallelismus zu dem Gehalt an Immunisierungseinheiten erzielt; ferner wäre auch die ungemein umfangreiche Statistik der Diphtheriebehandlung nicht außer acht zu lassen.

Während die Untersuchungen von Kraus und Doerr stets auf dem Gebiet von Toxin und Antitoxin sich bewegen, nimmt Cruveilhier an, es wäre den antimikrobischen Substanzen ein reger Anteil an der therapeutischen Wirkung zuzuschreiben.

Wir haben schon vorhin erwähnt, was, abgesehen von dem Toxin, von den Leibessubstanzen der Diphtheriebacillen zu halten sei, und haben überdies behauptet, daß uns bis auf weiteres keine festgesetzte Tatsache berechtige, bei der Diphtherie die Wirkung sekundärer Gifte anzunehmen.

Uebrigens, selbst wenn wir das Bestehen solcher Gifte annehmen wollten, wären wir noch immer außer stande, mittelst derselben die abweichenden Resultate zu erklären, welche Cruveilhier bei Anwendung

rein antitoxischer Sera erzielte und nach welchen das minderwertig titrierte auch den besagten sekundären Giften gegenüber eine Wirkung ausübt, während hochwertige Sera dieses nicht vermochten.

In Anbetracht der Natur der verglichenen antitoxischen Sera ist aber ein solcher Ausfall nicht möglich; es bleibt daher gänzlich ausgeschlossen, daß die abweichenden Resultate durch die antimikrobische Substanz bedingt sein könnten, weshalb einzig und allein die Möglichkeit besteht, daß solche Sera nicht nur gegen das Toxin, sondern auch gegen die dem Protoplasma des lebenden Mikroben anhaftende Virulenz gerichtet sind.

Es ist bekannt, daß einige Diphtheriearten sich wohl in Tieren virulent erweisen, in vitro hingegen als schlechte Toxinerzeuger erscheinen; es könnte dies zu der Annahme führen, als bestünde zwischen Virulenz und Diphtherietoxin ein ungleiches, bisher noch nicht geklärtes Verhältnis und als könne ein gegen beide Faktoren gerichtetes Serum zu therapeutischen Zwecken passender sein; dahin scheint mir auch das, aus den Untersuchungen Cruveilhiers zu entnehmende Konzept zu gipfeln.

Die Frage, deren Lösung ich mir auferlegte, war demnach folgende:

Ich beobachtete vor allem das Verhalten eines hochwertigen antitoxischen Serums gegenüber einem mit virulenten Diphtheriebacillen zubereiteten; letzteres suchte ich soviel als möglich von dem löslichen Toxin unabhängig zu erhalten, damit es imstande wäre, die von Cruveilhier besprochene, antimikrobische Wirkung zu entfalten.

Zu diesem Zwecke wählte ich unter den verschiedenen Stämmen von Diphtheriebacillen, über welche das Institut verfügt, einen sogenannten homogenen Bacillus aus, so bezeichnet, weil er in den zu seinem Wachstum dienenden Nährbouillons eine gleichmäßige Trübung erzeugt. Es besitzt dieser Stamm, wenn auch nicht eine konstante, so doch hinreichend große Virulenz, um die mit einer Platinnadel infizierten 250—300 g schweren Tiere in 20—36 Stunden zu töten.

In der Nährbouillon erwies dieser Bacillus nur eine geringe Fähigkeit, Toxin zu erzeugen.

Um die allergünstigsten Verhältnisse zur vorherrschenden Entfaltung der antimikrobischen Wirkung des Serums zu erzielen, wurde auch zur Vorbehandlung des Pferdes der gleiche Stamm herangezogen.

Die Immunisierung des Pferdes wurde im September 1904 begonnen und bis zum September 1905 fortgesetzt, hierauf aber unterbrochen, da

No.	Datum	Gewicht in g	L + 0,51	Ergebnis
1329	3. Aug. 1906	250	8 IE. — Serie 64	lebt (keines)
1330	3. " "	260	8 " " "	" "
1331	3. " "	250	9 " " "	" "
1332	3. " "	250	9 " " "	" "
1317	26. Juli "	245	10 " " "	+ nach 5 Tagen ¹⁾
1318	26. " "	250	10 " " "	+ " 5 "
1319	26. " "	250	300 " " 87	+ " 5 "
1320	26. " "	250	300 " " "	lebt (Schorf)
			L + 0,94	
5591	20. Novbr. 1907	230	10 IE.	lebt
5592	20. " "	240	10 " "	"
5593	20. " "	270	300 " "	"
5594	20. " "	240	300 " "	"

1) + bedeutet Tod des Tieres.

das Tier schon eine beträchtliche Anzahl von Plattenkulturen der oben genannten homogenen Bacillen auf Agar-Agar erhalten hatte.

Nach beendeter Immunisierung erwies das Serum dieses Pferdes dem antigenen Bacillus gegenüber eine Agglutinationskraft von 1:300, während der nach der Ehrlichschen Methode auf antitoxische Einheiten berechnete Wert desselben auf je 1 ccm etwas weniger als 10 Einheiten betrug (Serie 64).

Zum parallelen Vergleich wählte man ein antitoxisches Serum zu 300 IE. (Serie 87) pro Kubikzentimeter, dessen Wert ebenfalls ziemlich genau berechnet war, wie aus der angeführten Tabelle zu entnehmen ist.

Mit diesem Untersuchungsmaterial schritt man an die vergleichende Wertbestimmung der beiden Sera, welche in Anbetracht ihrer Herkunft eine deutliche Verschiedenheit zeigen sollten.

Vermittelst der Marxschen Methode wurde selbstverständlich nur eine geringe Anzahl vergleichender Nachprüfungen ausgeführt, da ja bei der Titrierung nach Ehrlich die beiden Werte sich in jedem Falle gleichstehen.

No.	Datum	Gewicht in g	24 Stunden vorher ins Peritoneum eingeführte IE.	Ergebnis
5630	3. Dez. 1907	250	0,5 Serie 87	lebt (keines)
5631	3. " "	260	0,5 " 87	" "
5632	3. " "	250	0,5 " 64	" "
5633	3. " "	250	0,5 " 64	" "

Gegenüber der subkutan eingeführten minimalen Dosis letalis zeigen die beiden prophylaktisch angewandten Sera nach Verlauf von 24 Stunden ein gleiches Verhalten:

No.	Datum	Gewicht in g	Intoxikation	8 Stunden nachher IE.	Ergebnis
5634	4. Dez. 1907	210	0,1	4 IE. Serie 87	† nach 5 Tagen
5635	4. " "	260	"	4 " " "	lebt Schorf
5636	4. " "	270	"	8 " " "	" "
5637	4. " "	250	"	8 " " "	" "
5638	4. " "	250	"	4 " " 64	" "
5639	4. " "	250	"	4 " " "	" "
5640	4. " "	270	"	8 " " "	" "
5641	4. " "	270	"	8 " " "	" "
5642	4. " "	250	"	Kontrolle	† nach 36 Stunden
5642 bis	4. " "	260	"	"	† " 4 Tagen

Es bewiesen demnach die beiden der Prüfung unterzogenen Sera auch bei der Heilung eine gleiche, im Verhältnis zu dem Gehalt an antitoxischen Einheiten stehende Wirkung.

Was aber das größte Interesse verdiente, war die Art und Weise ihres Verhaltens und ihrer Wirkung gegenüber der Infektion, da doch das eine Serum direkt gegen den Bacillus selbst hergestellt war.

Der Ausführung der Kontrolle mit Hilfe des Bacillus selbst steht jedoch eine Schwierigkeit entgegen. Es läßt sich nämlich wohl beim Beginn der Infektion an ein und demselben Zeitpunkt ein hinlängliches Verhältnis zwischen der Anzahl der Bacillen und deren Virulenz feststellen, man erhält aber zuweilen in der Folge und beim Abschluß derselben bedeutende Abweichungen, da man, je nach der größeren oder minderen Resistenz der einzelnen Tiere, eine mehr oder weniger schwere

Intoxikation erzielt. Jene Abweichungen, welche wir bei Anwendung einer gleichen Toxindosis in gleich schweren Tieren beobachten, müssen in diesem Falle zweifelsohne bedeutend erheblicher erscheinen.

Im Laufe der Infektion machen sich diese Abweichungen durch stärkere oder schwächere Anhäufung mehr oder minder reichliche Erzeugung der Toxine geltend, so daß wir in den gegebenen Augenblicken außerstande sind, die quantitative Toxinerzeugung und die zu deren Neutralisierung erforderliche Serumdosis zu bestimmen.

Uebrigens ist es nicht immer eine leichte Aufgabe, eine konstante Virulenz zu erhalten, vor allem wenn es sich um einen rein toxischen Bacillus handelt, wie dies beim Diphtheriebacillus der Fall ist.

Folgende Tabelle beweist den pathogenen Wert des an Meerschweinchen geprüften homogenen Bacillus, welcher einer 24-stünd. Agarkultur entstammte und von dem eine Oese = ungefähr 1 mg, in das Versuchstier eingeführt wurde:

No.	Gewicht des Tieres in g	Ergebnis
1086	380	† nach 26 Stunden
1091	350	† „ 36 „
1109	270	† „ 36 „
1198	260	† „ 24 „
1199	280	† „ 24 „
1229	270	† „ 17 „
1230	270	† „ 17 „
1231	270	† „ 20 „
1255	260	† „ 36 „
1256	260	† „ 36 „

Der Vorbeugungswert der beiden Sera wurde geprüft, nachdem die Injektion 24 Stunden vor der Infektion ins Peritoneum gegeben wurde. Was die Infektion selbst betrifft, so wurde sie mit einer Oese in eine in das Ohr des Tieres eingeschnittene Sacktasche eingeführt.

No.	Gewicht des Tieres in g	Serumdosis in IE.	Ergebnis
1223	270	1 IE. (Serum je 10 IE. pro ccm)	lebt (Schorf)
1224	270	1 „ „ „ 10 „ „ „	„ „
1225	250	1 „ „ „ 10 „ „ „	„ „
1244	270	0,3 „ „ „ 10 „ „ „	† nach 3 Tagen
1245	270	0,3 „ „ „ 10 „ „ „	lebt (Schorf)
1226	290	0,3 „ „ „ zu 300 „	„ „
1227	270	0,3 „ „ „ 300 „	„ „
1228	290	0,3 „ „ „ 300 „	† nach 4 Tagen
1229	270	Kontrolle	† „ 17 Stunden
1230	270	„	† „ 17 „
1231	270	„	† „ 20 „

Bei der Prophylaxe zeigen die beiden Sera das gleiche Verhalten dem virulenten Bacillus gegenüber, wie dies auch bei der Intoxikation der Fall ist; hier ist jedoch die Wirkung eine etwas geringere in Anbetracht der an den Kontrolltieren erscheinenden intensiveren Vergiftung. Zu Gunsten des minderwertigen Serums spricht aber kein besonderes Faktum, und es besteht ein gekennzeichnete Parallelismus zwischen Schutzwert und antitoxischem Gehalt sowohl hier als auch in den folgenden

Untersuchungen, bei denen Infektion und prophylaktische Einführung des Serums gleichzeitig bewerkstelligt wurden.

No.	Gewicht des Tieres in g	Serumdosis	Ergebnis
1248	250	0,3 IE. (Serum 10 IE. pro ccm)	+ 48 Stunden
1249	270	0,3 " " 10 " " "	lebt (Schorf)
1250	270	0,3 " " 300 " " "	" "
1251	270	0,3 " " 300 " " "	" "
1254	270	Kontrolle	+ in 36 Stunden
1255	260	"	+ " 36 "
1256	260	"	+ " 36 "
1252	280	1 IE. (Serum zu 10 IE.)	lebt (Schorf)
1253	260	1 " " 10 " "	" "

Wenn jedoch die beiden Sera sich in jeder der angeführten Versuchsreihen gleichartig oder nahezu gleichartig verhalten, so können dieselben, obgleich sie in einem Abstand von nur wenigen Tagen (5 Tagen) ausgeführt wurden, nicht miteinander verglichen werden; die Kontrollen der ersten Serie nämlich erliegen nach 17–20 Stunden, jene der zweiten hingegen erst nach 36 Stunden; es wird demnach bei den letzteren der Tod in einem doppelt so langen Zeitraum herbeigeführt. Wenn aber der Bacillus in dem längeren Zeitraum eine größere Menge Toxin absondert, so sind natürlich die beiden zu verschiedenen Zeiten ausgeführten Versuchsreihen nicht mehr miteinander zu vergleichen.

Diese Tatsache macht nach meiner Meinung die Infektionsmethode zur Wertbestimmung des Vorbeugungs-, vornehmlich aber des Heilwertes wenig geeignet, denn wir beherrschen in diesem Falle das Gift nicht, wie dies bei der Intoxikation geschieht.

Wenn wir, wie es übrigens schon Kitasato beim Tetanus zu tun pflegte, den mit virulenten Bacillen infizierten Meerschweinchen den Teil abnehmen, der die Infektionsstelle begreift (was ja beim Ohre dieser Tiere leicht geschehen kann), so ermöglicht uns dieses eine genaue Beobachtung des Phänomens der Erzeugung des Toxins und dessen Verbreitung im lebenden Organismus. Es ist uns auf diese Art auch gegeben, uns zu überzeugen, wie rasch die Vergiftung des Versuchstieres vor sich geht und wie wenig geeignet eine derartige heftige Probeinfektion zu einer genauen Wertbestimmung des Serums ist.

Die zu diesem Zwecke angewendete Methode ist folgende: Auf der oberen Hälfte der Ohrinnenseite wird mit Hilfe der Lindenbornschen Impfpflanzette eine kleine Sacktasche eingeschnitten, der Bacillus eingeführt, die Sacktasche mit Kollodium verschlossen und hierauf zur gegebenen Zeit das ganze Ohr abgeschnitten.

Folgende Tabelle führt einige der in diesem Sinne gemachten Untersuchungen an.

Bei der Beobachtung der angeführten Infektionsdauer ist klar und deutlich ersichtbar, daß der Bacillus in wenigen Stunden nur eine genügende Menge Toxin ausscheidet, um den Tod des Tieres in einem bedeutend kürzeren Zeitraume herbeizuführen, als dies gewöhnlich bei der einfach tödlichen Dosis der Fall ist. Es scheint aus der Tabelle auch hervorzugehen, daß die ausschlaggebende Tätigkeit des Diphtheriebacillus sich in den ersten Stunden der Infektion abspielt; wir sehen z. B. tatsächlich bei den letzten zwei Meerschweinchen No. 1142 und 1143, daß das in 15 Stunden ausgeschiedene Gift den Tod ebenso rasch herbei-

führt als bei den Tieren, welche nur 5 Stunden der Infektion ausgesetzt waren.

No.	Datum	Gewicht in g	Infektionsdauer, berechnet von deren Einführung bis zur Abnahme des Ohres	Ergebnis	Sektionsbefund
1110	11. Juni	280	5 Stunden	lebt	—
1111	11. "	250	5 "	+ nach 36 Stunden	Diphtherie
1112	11. "	270	2 "	+ " 36 "	"
1105	11. "	270	Kontrolle	+ " 36 "	"
1128	19. "	280	3 Stunden	+ " 10 Tagen	Auszehrung
1129	19. "	270	5 "	+ " 24 Stunden	Diphtherie
1130	19. "	280	5 "	+ " 24 "	"
1131	19. "	260	3 "	+ " 24 "	"
1132	19. "	260	5 "	+ " 24 "	"
1140	21. "	250	2 "	lebt	—
1141	21. "	250	2 "	+ " 24 "	"
1142	21. "	250	15 "	+ nach 36 Stunden	Diphtherie
1143	21. "	250	15 "	+ " 24 "	"

Ich führe hier unten noch weitere Untersuchungen an:

No.	Datum	Gewicht in g	Infektionsdauer, berechnet von deren Einführung bis zur Abnahme des Ohres	Ergebnis	Sektionsbefund
5850	25. Febr.	260	Kontrolle	+ nach 50 Stunden	Diphtherie
5851	25. "	260	"	+ " 60 "	"
5852	25. "	250	6 Stunden	+ " 60 "	"
5853	25. "	250	6 "	lebt	"

aus denen hervorgeht, daß, obgleich bei den Kontrolltieren der Tod erst in 50–60 Stunden eintrat, doch eines der Meerschweinchen, dem das Ohr 6 Stunden nach der Infektion abgenommen wurde, gleichzeitig mit einem der Kontrolltiere verendete. Mit dem Ohr wurde selbstverständlich der Infektionsherd total entfernt, man stellte auch fest, daß das Ausschwärmen der Bacillen in die naheliegenden Gewebe nicht stattgefunden hatte.

In einer weiteren Versuchsreihe finden wir abermals das gleiche Phänomen:

No.	Datum	Gewicht in g	Infektionsdauer	Ergebnis	Sektionsbefund
1486	21. Sept.	250	Kontrolle	+ nach 36 Stunden	Diphtherie
1487	21. "	250	"	+ " 36 "	"
1488	21. "	250	3 Stunden	+ " 6 Tagen	Auszehrung
1489	21. "	250	3 "	+ " 36 Stunden	Diphtherie
1492	21. "	250	8 "	+ " 60 "	"
1493	21. "	250	8 "	+ " 36 "	"

Ohne mich momentan auf Erörterungen über die Ursache solcher Abweichungen einzulassen, glaube ich mich dennoch berechtigt, zu behaupten, daß die Virulenz des Diphtheriebacillus nicht auf der Ausscheidung spezieller, endotoxischer Produkte beruht, sondern sich vielmehr im Zusammenhang befindet mit der Geschwindigkeit, mit welcher der Bacillus im infizierten Tierkörper besser als in vitro die spezifischen Toxine ausscheidet.

Es zeigt sich dasselbe Phänomen auch, wenn zu den Untersuchungen ein anderer höchst virulenter und äußerst toxischer Diphtheriebacillus herangezogen wurde, dem man den Namen „Diphtherie H“ beigelegt hat.

No.	Datum	Gewicht in g	Infektionsdauer von Einführung derselben bis zur Abnahme des Ohres	Ergebnis	Sektionsbefund
5861	29. Febr.	240	Kontrolle	+ nach 36 Stunden	Diphtherie
5864	29. "	260	"	+ " 15 "	"
5862	29. "	240	6 Stunden	+ " 36 "	"
5863	29. "	240	6 "	+ " 36 "	"

Die Infektionsdauer ist aber nicht immer so kurz, man kann zeitweilig beobachten, daß nach Verlauf von 6 Stunden selbst nicht die einfach tödliche Toxindosis ausgeschieden wurde,

No.	Datum	Gewicht in g	Infektionsdauer von Einführung derselben bis zur Abnahme des Ohres	Ergebnis	Sektionsbefund
5857	29. Febr.	230	Kontrolle	+ nach 15 Stunden	Diphtherie
5859	29. "	230	"	+ " 36 "	"
5850	29. "	260	6 Stunden	lebt	"
5860	29. "	240	6 "	+ nach 6 Tagen	Anzeichen von Auszehrung

wie aus obiger Tabelle zu ersehen ist.

In dieser langen Untersuchungsreihe schien die toxische Erzeugung des Diphtheriegiftes stets in kritischer Art und Weise vor sich zu gehen. Ein äußerst rascher Anstieg gefolgt von einer ebenso raschen Abnahme. Ob letztere einer Erschöpfung des Bacillus selbst oder der Erzeugung antitoxischer Substanzen zuzuschreiben ist, kann ich vorläufig nicht entscheiden, da es mir an nötigen Daten mangelt. Im Tierkörper wird das toxische Vermögen rasch erschöpft, im völligen Gegensatz zu anderen Mikroorganismen, bei denen sich dasselbe im Tierkörper vermehrt (Bailische Aggressive).

Nehmen wir bei einem, durch den Diphtheriebacillus getöteten Meerschweinchen das Infektionsmaterial von der Impfstelle (ein Material, das sich in Kulturen noch lebend und virulent erweist) und führen dasselbe durch wiederholte Passagen in die Ohren neuer Meerschweinchen ein, so beobachten wir, daß der Bacillus das Tier in der zweiten Passage höchst selten, in der dritten hingegen nie mehr tötet.

Auf Grund dieser so sehr verschiedenen Intoxikationsgeschwindigkeit kann demnach bei den zu behandelnden Fällen das Heilserum nicht stets in gleicher Weise herangezogen werden. Wenn wir auf folgender Tabelle die Fälle vergleichen, bei denen die Heilung 3 Stunden nach der Infektion begonnen wurde,

No.	Datum	Gewicht in g	Serumdosis 3 Stunden nach der Infektion	Ergebnis
1288	20. Juli	250	Kontrolle	+ nach 36 Stunden
1289	20. "	250	"	+ " 36 "
1290	20. "	250	1 IE. (Serum zu 10 IE. pro ccm)	lebt (Schorf)
1291	20. "	250	1 " " " 10 " " "	"
1292	20. "	250	1 " " " 300 " " "	+ nach 15 Tagen
1293	20. "	250	1 " " " 300 " " "	+ " 3 1/2 "

so zeigt sich das hochwertige Serum etwas minder aktiv als jenes zu 10 antitoxischen Einheiten; beobachten wir aber die unten angeführten, 5 Stunden nach der Infektion begonnenen Heilungsversuche, bei denen das Serum ins Peritoneum eingeführt wurde,

No.	Datum	Gewicht in g	Serumbehandlung nach der Infektion	Ergebnis	Sektionsbefund
1302	26. Juli	250	Kontrolle	† nach 24 Stunden	Diphtherie
1303	26. "	250	"	† " 36 "	"
1304	26. "	240	"	† " 26 "	"
1305	26. "	250	1 IE. (Serum zu 300)	† " 18 "	"
1306	26. "	250	1 " " 300)	† " 36 "	"
			nach 8 Stunden		
1307	26. "	250	1 " nach 5 Stunden	† " 36 "	"
1308	26. "	250	1 " (Serum zu 10)	† " 36 "	"
			nach 8 Stunden		
1309	26. "	250	1 " (Serum zu 10)	† " 36 "	"
			nach 5 Stunden		
1310	26. "	250	1 " nach 5 Stunden	† " 36 "	"

so erfolgt hier bei beinahe allen Tieren der Tod nach einem gleichen Zeitraum.

In der folgenden Tabelle endlich wird die Heilung der Infektion zu verschiedenen Epochen und mit abwechselnd höheren und niederen Serumdosen versucht; aus ihr geht hervor, daß nach Ablauf der ausschlaggebenden Periode, d. h. nach den ersten Stunden, selbst die 30-fache Dosis eines mit dem Bacillus hergestellten Serums es nicht vermag, der fatalen Infektion Einhalt zu gebieten.

No.	Datum	Gewicht in g	Serumbehandlung nach der Infektion	Ergebnis	Sektionsbefund
1513	3. Aug.	250	Kontrolle	† nach 36 Stunden	Diphtherie
1514	3. "	260	"	lebt (Schorf)	—
1515	3. "	270	0,5 IE. (Serum zu 10)	"	—
			nach 4 1/2 Stunden		
1516	3. "	260	0,5 " (Serum zu 10)	"	—
1517	3. "	250	1 " " 10	† nach 3 1/2 Tagen	Diphtherie
			nach 4 1/2 Stunden		
1518	3. "	250	1 " (Serum zu 10)	† " 3 1/2 "	"
1519	3. "	280	2 " " 10	† " 36 Stunden	"
			nach 6 1/2 Stunden		
1520	3. "	250	2 " (Serum zu 10)	† " 36 "	"
1556	20. "	260	1 " nach 5 Stunden	† " 24 "	"
1557	20. "	250	1 " " 5 "	† " 24 "	"
1558	20. "	250	1 " " 5 "	† " 24 "	"
1559	20. "	250	Kontrolle	† " 22 "	"
1563	20. "	260	"	† " 36 "	"
1566	20. "	260	"	† " 36 "	"
1560	20. "	260	2 IE. nach 7 Stunden	† " 26 "	"
1561	20. "	260	2 " " 7 "	† " 52 "	"
1562	20. "	250	2 " " 7 "	† " 36 "	"
1564	20. "	250	10 " " 9 "	† " 20 "	"
1565	20. "	250	10 " " 9 "	† " 34 "	"
1567	20. "	260	10 " " 9 "	† " 36 "	"

Aus den vorhergehenden Untersuchungen glaube ich folgende Schlußfolgerungen ziehen zu können:

Die Virulenz des Diphtheriebacillus steht in engem Verhältnis zu den in der einzelnen Zeiteinheit ausgeschiedenen Toxinen;

das direkt mit dem die Infektion hervorruhenden Bacillus hergestellte Serum zeigt ein gleiches Verhalten wie das antitoxische Serum, da es keinen besonderen Vorrang gegenüber seinem eigenen Antigen besitzt.

Das prophylaktische Vermögen des benannten Serums übersteigt seine Heilkraft, und zwar in genau demselben Maße, als dieses bei den nur mit Toxin bereiteten Sera der Fall ist;

die Methode Ehrlichs ist die einzige, welche uns eine sichere Wertbestimmung und einen gegenseitigen Vergleich der antitoxischen Sera ermöglicht.

Literatur.

- 1) Kossel, Zur Kenntnis des Diphtheriegiftes. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XIX. p. 977.)
- 2) Murillo, Ueber die Diphtherietoxinkurve. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXV. p. 209.)
- 3) Brieger u. Boer, Ueber die Toxine der Diphtherie und des Tetanus. (Dtsch. med. Wochenschr.) 1896. p. 783.
- 4) Wassermann, Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 44.
- 5) Aronson, Arch. f. Kinderheilk. Bd. XXX.
- 6) Rist, Sur la toxicité des corps des bacilles diphtériques. (Comptes rendus soc. biol. T. LV. 1903.)
- 7) Martin, L., Société de biol. 1903.
- 8) Lambotte, Les sensibilisatrices des bacilles diphtériques et pseudodiphtériques. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXX. 1901.)
- 9) Bandi, Centralbl. f. Bakt. Abt. 1903.
- 10) Besredka, Annales Inst. Pasteur. T. XVIII. 1904.
- 11) Cruveilhier, Comptes rend. soc. de biol. 1907. No. 19.
- 12) Lambotte, l. c.
- 13) Bandi, l. c.
- 14) —, Atti R. Accad. Fisiocritici. 1906. No. 4.
- 15) Belfanti, S., Le bronco-polmonite difteriche. (Lo Sperimentale. Sez. biol. 1895. No. 2..)
- 16) Mya, Accad. med. fisiol. Firenze. 1905.
- 17) Concetti, Res. V. Congr. ital. di Pediatria.
- 18) Martin u. Momont, Société de biol. 1903.
- 19) Roux, Quelles sont les meilleures méthodes pour mesurer l'activité des sérums. Rapport congr. hygiène Bruxelles 1903.
- 20) Kraus u. Doerr, Die experimentelle Grundlage einer antitoxischen Therapie der bacillären Dysenterie. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LV. 1906.)
- 21) Kraus, Kongr. f. Hygiene Berlin 1907.
- 22) Cruveilhier, De la valeur thérapeutique de l'antitoxine dans les sérums antidiphtériques. (Annales Inst. Pasteur. 1905.)

Nachdruck verboten.

Agglutination bei Mischinfektion.

[Aus der I. internen Klinik der Universität Budapest
(Direktor: Prof. Dr. Friedrich v. Korányi).]

Von Dr. Julius Kentzler und Dr. Julius Benczur, Interne der Klinik.

In manchen Fällen von Typhusinfektion kann neben dieser gleichzeitig noch eine andere Infektion bestehen, infolgedessen das typische Bild des Typhus unklar wird, so daß die Diagnose nur schwierig gestellt werden kann.

Vor kurzem beobachteten wir einen derartigen Fall, welchen wir hier kurz mitteilen.

K. S., 20 Jahre altes Mädchen, war bis jetzt immer gesund. Vor 16 Tagen eine Geburt. In den ersten Tagen des Wochenbettes fühlte sie sich wohl. Am 6. Tage hatte sie Schüttelfrost, die Temperatur betrug 40° C. Seitdem wiederholte sich der Schüttelfrost öfters, das Fieber war beständig. Es bestand Kopfschmerz und allgemeines Unwohlsein. Am 6.—8. Tage nach der Geburt hatte sie Ohrensausen im rechten Ohr; das Gehör war rechts herabgesetzt. Kein Ohrenfluß. Seit 6 Tagen hustet sie und hat täglich 4—5mal leichten dünnen Stuhl.

Nach der auf der gynäkologischen Klinik stattgefundenen Untersuchung besteht ein geheiltes Ulcus puerperalis. Das Endometrium ist normal, die bakteriologische Untersuchung der Uterinalschleimhaut ist negativ. Die Parametrien sind frei. Die Zahl der weißen Blutzellen beträgt 14500.

Status praesens bei der Aufnahme: Gutgebaute Person, mit normalem Knochenbau. Die Zunge ist mit einem weißen Belag bedeckt, am Rande himbeerrot. Der Rachen ist trocken, das Schlucken beschwerlich. Täglich 5—6mal Diarrhöe. Brustorgane normal. Puls gut, 140 pro Minute. Der Bauch ist nicht empfindlich. Auf der Haut des Bauches sind einige Roseolen sichtbar. In der Gegend des Coecum ist auf Druck Kollern hörbar. Die Milzdämpfung beginnt bei der VIII. Rippe und reicht nach unten bis zur XI., nach vorn über die vordere Axillarlinie. Urin klar, sein spezifisches Gewicht beträgt 1015. Kein Eiweiß, kein Eiter. Diazo Reaktion ist stark positiv. Die Zahl der weißen Blutzellen beträgt derzeit 3190. Die Widal-Reaktion ist negativ.

2 Tage nach der Aufnahme war die Widalsche Reaktion in Verdünnung 1:100 positiv. Diarrhöe und hohes Fieber war beständig. Am 5. Tage ihres Aufenthaltes auf der Klinik bekam die Kranke Ohrenscherzen, das rechtsseitige Trommelfell war imbibiert, oben rückwärts vorgewölbt. Nach weiteren 2 Tagen war die Gegend des rechten Processus mastoideus ödematös, es trat rechtsseitiger eitriger Ohrenfluß auf. Das Trommelfell war nun imbibiert, gedunsen, verdickt, oben vorgewölbt. Am vorgewölbten Teile war eine kleine Öffnung sichtbar, durch welche Eiter nach außen drang. Nach Paracentese floß noch mehr Eiter, die Schmerzen und die genannten Oedeme verringerten sich. Dabei bestand ständig Fieber (40° C) und Diarrhöe. Am 14. Tage starker Schüttelfrost. Genitalien frei. Die Widal-Reaktion war nun in Verdünnung 1:50 positiv, 1:100 negativ. Nun entstand auch Entzündung des linken Mittelohres. Das Resultat der nun ausgeführten bakteriologischen Blutuntersuchung zeigte, daß aus dem Blute *Staphylococcus pyogenes aureus* reingezüchtet werden konnte. Die Diagnose lautete nun Pyämie + Typhus abdominalis. Die Kranke wurde täglich schwächer, das Fieber war remittierend, der Puls 130—160. Am 21. Tage ihres Aufenthaltes auf der Klinik starb die Patientin.

Die Sektion rechtfertigte die Diagnose. Im unteren Teile des Ileums waren einige geheilte typhöse Ulcera, im Dickdarm einige frische Geschwüre zu sehen. Die mesenterialen Drüsen waren geschwollen; Tumor lienis acutus; so daß zweifellos Typhusrezidiv bestand. In beiden Mittelohren war Eiter zu finden. Der Fundus uteri war bloßgelegt, der Uterus involviert, die Parametrien normal. Aus der Milz konnte *Staphylococcus* gezüchtet werden.

In unserem Falle handelte es sich also um eine puerperale Infektion, welche schnell heilte. Für Infektion spricht die hohe Zahl (14500) der weißen Blutkörper. Sodann wurde die Patientin typhuskrank. Bald darauf entstand eine eitrige Mittelohrentzündung des rechten und linken Ohres. Anfangs beeinflusste die neue Infektion den Verlauf der Krankheit nicht, später, als die Symptome des Typhus in den Hintergrund traten und die Pyämie im Krankheitsbild dominierte, trat Schüttelfrost und remittierendes Fieber auf. Aus dem Blute wurden zu dieser Zeit *Staphylokokken* gezüchtet. Die Sektion ergab, daß die Kranke an Typhus abdominalis gelitten hatte, die häufigen Schüttelfröste und das remittierende Fieber der letzten Tage erklärte jedoch nur die *Staphylokokkeninfektion*. Dieser Coccus konnte post mortem auch in der Milz nachgewiesen werden.

Es fragt sich nun, was der Grund dieser Komplikation war. Die *Staphylokokken* gelangten aus dem Mittelohr in das Blut. Die Mittelohrentzündung entstand wahrscheinlich durch Metastase einer puerperalen Infektion, als deren Pforte das Ulcus puerperale diente.

In der Literatur fanden wir nur wenige ähnliche Fälle. 1896 be-

schreibt Dürk einen Neugeborenen (welcher im Alter von 9 Monaten starb), dessen Mutter seit 3 Wochen an Typhus litt. In der Milz und Leber konnten Typhusbacillen und Staphylokokken nachgewiesen werden. Einen anderen Fall sicherer Mischinfektion ist jener Murrays (1899). In der Glandula thyreoidea des Kranken, welcher an durch serologische Untersuchung bewiesenem Typhus litt, entstand ein Eiterherd, aus welchem *Staphylococcus pyogenes albus* gezüchtet wurde. Griffon berichtet (1903) über einen 60 Jahre alten Mann, welcher an Bronchopneumonie litt, bei dem die Widalsche Reaktion positiv war. Bei der Sektion konnte zwar im Darm kein Geschwür konstatiert werden, aus der geschwellenen Milz, der Galle und dem Rückenmark konnten jedoch Typhusbacillen gezüchtet werden. Im Blute waren außer Typhusbacillen auch Streptokokken nachweisbar. Chavigny (1903) konstatierte bei einem Knaben mittels der Serumreaktion Typhus; die Lumbalflüssigkeit desselben Kranken enthielt aber zugleich Tuberkelbacillen. Jochmann züchtete (1903) aus dem Blute eines Scharlachkranken Paratyphusbacillen. Die Sektion des Kranken ergab keine positiven Befunde, aus dem Blute der Leiche wurden jedoch sowohl Streptokokken wie Paratyphusbacillen gezüchtet. Reiche züchtete (1905) aus der Leber eines an Typhus Verstorbenen den *Bacillus phlegmonosus emphysematus* Fraenkel-Welch, und glaubt, daß dieser Bacillus wahrscheinlich auf dem Wege eines typhösen Geschwürs in die Leber gelangte. Der Fall Lubowskis und Sternbergs (1904) erinnert an unseren. Ein an Typhus Leidender erkrankte an Otitis media. Aus dem Eiter wurde *Proteus* und *Staphylococcus* gezüchtet. Im Falle Dieudonnés (1901) komplizierte sich der serologisch erwiesene Typhus mit rechtsseitiger Pneumonie. Im Sputum war *Diplococcus pneumoniae* nachweisbar. Quadrone und Cler (1905) konnten in 2 Typhusfällen, trotz der Komplikation, welchen der Fraenkelsche *Diplococcus* verursachte, ein hohes Typhusagglutinationstiter nachweisen. Suquépé beschreibt einen Paratyphusfall, welcher mit *Enterococcus*-Infektion kombiniert war, ohne daß dadurch das Krankheitsbild verändert wurde.

Alle diese Fälle sprechen dafür, daß zwei verschiedene Infektionen gleichzeitig bestehen können, ohne daß die eine die andere beeinflusst. Wir fanden jedoch drei Berichte, welche die entgegengesetzte Anschauung vertreten. Diese Autoren behaupten, daß, falls sich zu einer Typhusinfektion eine Infektion mit einem anderen Bacillus gesellt, dies nicht nur die klinischen Symptome des Typhus, sondern auch die typischen Eigenschaften des Blutserums Typhuskranker derart beeinflusst, daß die vorher nachweisbaren Typhusantikörper aus dem Blute verschwinden. Kraus behandelte (1900) einen Typhuskranken, bei welchem eine durch Diplokokken verursachte Pneumonie auftrat. Letzteren Befund bestätigte auch die Sektion. Das Blutserum agglutinierte anfangs die Typhusbacillen. Nach Auftreten der Pneumonie war jedoch die Widalsche Reaktion negativ. Iverson (1905) berichtet über einen Typhuskranken, bei welchem die vorher positive Widalsche Reaktion nach Auftreten einer von Diplokokken und Streptokokken verursachten Pneumonie negativ wurde. Im Falle Kayzers verhinderte eine Staphylokokkeninfektion lange Zeit hindurch das Auftreten der spezifischen typhösen Agglutinine im Blutserum.

Auch bei den experimentell erzeugten Mischinfektionen erhielten die Forscher verschiedene Resultate. Castellani fand im Jahre 1892, daß bei künstlich erzeugter Mischinfektion von Typhusbacillen, Coli und

Pseudodiphtheriebacillen der Agglutinationstiter unbeeinflusst blieb, daß also weder gleichzeitige noch nachträgliche Infektion mit einem Bacillus die Antikörperproduktion gegen einen anderen Bacillus beeinflusst. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangte Pulvineti (1904), welcher mit Typhus- und Coli-Bacillen, Diplokokken und Staphylokokken die Mischinfektionen verursachte und bei jeder hohe Agglutinationswerte für Typhus fand, ohne daß diese quantitativ durch Infektion mit anderen Bacillen beeinflusst wurden. Zu gleichen Resultaten führten Lubowskis und Sternbergs Untersuchungen aus dem Jahre 1904.

Kraus, sowie Kayser gelangten zu entgegengesetzten Resultaten. Ersterer fand bei den in vitro gemachten Versuchen, daß, wenn er einem Gemisch von Typhusbacillen und Typhusserum das Blutserum Pneumoniekranker zusetzte, die Agglutination der Typhusbacillen aufgehoben wurde. Wenn er statt dem Pneumonieserum in gleicher Menge Bouillon zusetzte, blieb hingegen die Agglutination unbeeinflusst. Kayser injizierte einigen Versuchstieren Typhus, später Staphylokokken, anderen gleichzeitig beide Mikroorganismen. Die Versuche wurden teils mit lebenden, teils mit abgetöteten Bacillen resp. Kokken ausgeführt. Es ergab sich, daß der Grad der Agglutination der Typhusbacillen mit der Menge der eingeführten Staphylokokken in verkehrtem Verhältnisse stand, ja bei den Versuchen mit lebenden Bacillen konnte überhaupt keine Agglutination beobachtet werden.

Diese diametral entgegengesetzten Resultate früherer Versuche, sowie die Beobachtung unseres eigenen Falles veranlaßten uns, die Frage neuerdings zu untersuchen. Die Frage ist praktisch wichtig, und falls Kayser's Ergebnisse richtig wären, würde dies die Diagnosestellung mittels der Serumreaktion stark erschweren.

Unsere Versuche vollführten wir derart, daß wir einige gleichschwere (1200—1800 g) Kaninchen teils mit durch eine Stunde langes Erwärmen bei 60° C abtöteten, teils mit lebenden Bakterien injizierten. Die dazu nötigen Bakterienemulsionen gewannen wir, indem wir die 24-stündigen Agarkulturen mit 5 ccm physiologischer NaCl-Lösung vermengten. In jeder Versuchsreihe wurde je ein Tier mit einem der zu dem Versuche benutzten Bakterien und ein Kaninchen mit beiden zugleich infiziert. Da es praktisch am wichtigsten schien, die Kombination des Typhusbacillus mit den Eiterkokken zu untersuchen, gebrauchten wir zu unseren Versuchen Typhus und Staphylococcus resp. Typhus und Streptococcus. Da jedoch diese beiden Kokken in die Gruppe der schlecht agglutinierenden gehört, konnten diese Experimente nur auf jene Frage Antwort geben, ob die eitererregenden Bakterien die Agglutination des Typhus beeinflusst. Es ist jedoch denkbar, daß auch der Typhusbacillus die Agglutination eines anderen Bacillus beeinflusst. Darum stellten wir weitere Versuche mit solchen Bacillen an, welche selbst gut agglutinieren. Zu diesem Zwecke wählten wir die Dysenteriebacillen.

In jeder Versuchsreihe wurden 3 Kaninchen behandelt: eines mit einer 24-stündigen Typhuskultur, ein anderes mit Staphylokokken (resp. Streptokokken oder Dysenteriebacillen), das dritte mit beiden Bakterien zugleich. Nach einer Woche nahmen wir belufs Bestimmung des Agglutinationstiters Blut von den Versuchstieren und behandelten sie neuerdings mit Bakterien. Nun wurden teils dieselben Bakterien wie das erste Mal injiziert, um dadurch die Agglutinationsfähigkeit des Serums zu erhöhen, teils tauschten wir die Bakterien derart aus, daß die früher mit Typhus behandelten Tiere nun mit Eiterkokken (oder Dysenterie),

die vorher mit Eiterkokken (oder Dysenterie) geimpften Tiere nun mit Typhusbacillen behandelt wurden. Nach Verlauf einer Woche injizierten wir, nachdem wir zwecks Serumuntersuchung neuerdings Blut entnahmen, wieder Bakterien in die Versuchstiere. Jene Kaninchen, welche zweimal denselben Bacillus erhielten, bekamen nun die anderen, jene hingegen, bei welchen wir das Injektionsmaterial getauscht, erhielten nun entweder die zum ersten Male oder die zum zweiten Male eingeführten Bakterien. Nach einer Woche nahmen wir neuerdings Blut, womit wir eine Versuchsreihe abschlossen.

Die Tiere vertrugen die Behandlung gewöhnlich gut. Von den 23 Versuchskaninchen starben nur 3, eines am 12., eines am 10., eines am 9. Tage. Die übrigen zeigten nicht einmal eine starke Gewichtsabnahme.

Das entnommene Blut ließen wir 24 Stunden stehen, nahmen sodann das Serum mittels Pipette ab und verfertigten mit 0,85-proz. NaCl-Lösung verschiedene Verdünnungen, indem wir den Agglutinationstiter zuerst in größeren Grenzen, sodann genauer bestimmten.

Wir gebrauchten das makroskopische Agglutinationsverfahren nach Ruediger, welches einer von uns bereits bei anderen Versuchen mit gutem Erfolge gebrauchte. Dieses Diagnostikum wurde derart hergestellt, daß zu 100 ccm 24-stündiger Bouillonkultur 1 ccm 40-proz. Formalin zugegeben wurde und diese Mischung 24 Stunden stehen gelassen wurde, wodurch die Bakterien abstarben, ohne ihre Agglutinationsfähigkeit zu verlieren.

Zu 0,1 ccm nativen resp. verdünnten Serums gaben wir 0,9 ccm Diagnostikum, schüttelten fest zusammen und ließen das Gemisch in kleinen Reagensgläschen 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen.

Derart untersuchten wir 3 Reihen Typhus und Staphylococcus, 2 Reihen Typhus und Streptococcus und 2 Reihen Typhus und Dysenterie. Außerdem wurde eine Reihe mit lebenden Typhusbacillen und Staphylokokken behandelt, während die übrigen Untersuchungen mit abgetöteten Bakterien geschahen.

In der Typhus-Staphylokokkenreihe bekamen 3 Tiere (in jeder Reihe eines) beide Bakterien zugleich; 2—2 Tiere bekamen bei zwei aufeinanderfolgenden Injektionen dasselbe Bakterium und nur bei der dritten Behandlung wurden die Bakterien gewechselt, bei je einem Tiere wurden die Bakterien bei jeder Injektion getauscht, so daß es zuerst Typhus, sodann Staphylococcus, dann abermals Typhus erhielt.

In der Streptokokken- und Dysenteriereihe verfolgten wir dasselbe Verfahren, nur daß bei diesen nur je ein Tier bei zwei aufeinanderfolgenden Injektionen denselben Mikroorganismus erhielt und nur bei 2 Tieren gleichzeitige Injektion beider Bakterien angewendet wurde.

Zwecks besserer Uebersicht verfertigten wir von unseren Versuchen folgende Tabellen.

Mit Typhus und Staphylococcus behandelten wir also 9 Tiere, von welchen je zuerst zweimal Typhus resp. Staphylococcus, das dritte Mal Staphylococcus resp. Typhus erhielten. Die Tiere nahmen an Gewicht kaum ab. Einige nahmen sogar zu. Wir legten Gewicht darauf, daß das Serum der Tiere die Bakterien vor den Versuchen nicht agglutinierten. Der Agglutinationstiter des Typhus betrug 2000—9000, derjenige des Staphylococcus 30—40. Beim ersten Kaninchen stieg der Typhustiter nach der Behandlung mit Staphylococcus von 6000

Tabelle I. Typhus und Staphylococcus (abgetödete Bakterien).

Tier- No.	Ge- wicht	Injektions- material	Tag der In- jektion	Zeit der Unter- suchung	Serumverdünnung										Bemer- kungen
					Typhus										
1	1190	Typhus	8. Tag	vorher	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	1090	Staphylo- coccus	15. "	8. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1110	"	"	15. "	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
	1100	"	"	22. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
2	1870	Typhus	8. Tag	vorher	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	1820	"	15. "	8. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1900	Staphyloc.	"	15. "	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	
	1900	"	"	22. "	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	
3	1710	Staphyloc.	8. Tag	vorher	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	1650	"	15. "	8. Tag	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	1780	Typhus	"	15. "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	1720	"	"	22. "	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
4	1300	Staphyloc.	8. Tag	vorher	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	1290	"	15. "	8. Tag	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	1300	Typhus	"	15. "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	1300	"	"	22. "	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	
5	1220	Typhus + Staphyloc.	8. Tag	vorher	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12. Tag tot
	1190	desgl.	"	8. Tag	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	
			"	12. "	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	
			"	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6	1720	Typhus + Staphyloc.	8. Tag	vorher	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	1520	desgl.	15. "	8. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1490	"	"	15. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1470	"	"	22. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
7	1000	Typhus + Staphyloc.	8. Tag	vorher	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10. Tag tot
		desgl.	"	8. Tag	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	
			"	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			"	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
8	1320	Typhus	8. Tag	vorher	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9. Tag tot
	1210	Staphylo- coccus	"	8. Tag	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	
			"	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
			"	"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
9	1380	Staphyloc.	8. Tag	vorher	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	1300	Typhus	15. "	8. Tag	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	1360	Staphyloc.	"	15. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	1380	"	"	22. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

auf 9000, beim zweiten von 2000 auf 3000. Der Staphylococcus-Titer war nach Typhusbehandlung unverändert.

Bei jenen Tieren, bei welchen das Injektionsmaterial erst bei der dritten Behandlung vertauscht wurde, war die Agglutininbildung ungefähr dieselbe wie bei den übrigen. Sie betrug bei Tier 3 6000, bei Tier 4 2000. Der Staphylococcus-Titer war bei Tier 1 und 2 30 und bei 3 und 4 40. Diesen Titer beeinflusste die Injektion mit Typhus gar nicht. Das Tier 9 wurde mit Staphylococcus, Typhus und neuerdings mit Streptococcus behandelt. Sein Staphylokokkentiter war nach der ersten wie nach der dritten Injektion 30. Der Typhustiter war nach der Typhusbehandlung 3000 und stieg trotz der Staphylokokkeninjektion auf 4000.

Von den 3 gemischt behandelten Tieren starb eines 12 Tage nach der zweiten Injektion und eines am 10. Tage. Der Typhustiter war bei allen dreien ziemlich hoch (bei No. 5 4000, bei No. 6 8000, bei No. 7 6000) und stieg bei No. 6 nach der dritten Behandlung noch von 8000 auf 9000. Der Titer für Staphylococcus betrug beständig 30. Aus diesen Versuchen geht klar hervor, daß die Mischinfektion die Entstehung der Typhusagglutinine nicht beeinflusst.

Die Resultate der Typhus- und Streptococcus-Reihe stimmen mit jenen der Typhus- und Staphylococcus-Reihe überein. Der Titer für Typhus betrug 1000–9000. Bei 4 Versuchstieren (darunter waren 2 mit Mischinfektion behandelte) stieg der Titer nach der Streptococcus-Infektion sogar (bei No. 10 von 6000 auf 9000, bei No. 12 von 1000 auf 4000, bei No. 13 von 6000 auf 7000, bei No. 15 von 2000 auf 4000). Einmal fanden wir nach der Streptokokkeninjektion eine Verminderung des Typhustiters (bei No. 14 von 3000 auf 1000). Der Streptokokkentiter war auch hier sehr gering, 20–30 (einmal 40) und konnte von der Typhusbehandlung nicht beeinflusst werden.

Ogleich diese Versuche genügt hätten, die Frage zu beantworten, ob die Typhusagglutininbildung durch fremde Keime beeinflusst wird, machten wir, um ganz präzise Resultate zu erhalten, noch weitere Versuche. Bei dieser Versuchsreihe waren wir nicht darauf bedacht, ob die beiden zum Experimente gebrauchten Bakterien eine Mischinfektion zu verursachen pflegen, sondern achtete nur darauf, daß beide in die Gruppe der gut agglutinierenden Bakterien gehören. In dieser Versuchsreihe konnten wir deshalb auch sehen, ob der *Bacillus typhi* die Agglutininbildung eines anderen gut agglutinierenden Bacillus beeinflusst. Wir wählten Typhus- und Dysenteriebacillen. Beide gehören der Gruppe gut agglutinierender Bacillen an, stehen jedoch genügend weit voneinander entfernt, um eine Gruppenagglutination auszuschließen.

Die Versuchsreihe mit Typhus und Dysenterie bestätigen unsere bisherigen Versuche. Das Serum eines Versuchstieres (No. 16) agglutinierte den Typhusbacillus, trotz wiederholter Behandlung mit Typhus, nur in einer Verdünnung von 1:1000. Dies schrieben wir einer individuellen Eigenschaft dieses Tieres zu. Die übrigen Tiere zeigten einen hohen Agglutinationstiter für Typhus (5000–9000). Dieser hohe Titer blieb vom *Bacillus dysenteriae* unbeeinflusst, in einem Falle (No. 19) stieg er sogar nach der dritten Mischinfektion (von 8000 auf 9000). Desgleichen blieb der Titer für Dysenterie von der Typhusbehandlung unbeeinflusst; in 4 Fällen (No. 17, 18, 19, 20) stieg er sogar, trotz nachträglicher Behandlung mit Typhus resp. Mischinfektion. Nur in einem Falle (No. 21) fiel der Titer für Dysenterie nach Typhusbehandlung von

Tabelle II. Typhus und Streptococcus (abgetötet).

Tier- No.	Ge- wicht	Injektions- material	Tag der Injektion	Zeit der Unter- suchung	Serumverdünnung																					
					Typhus										Streptococcus											
					10	100	1000	2000	3000	4000	5000	6000	7000	8000	9000	10000	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
10	1500	Typhus	8. Tag 15. "	vorher	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1400	"		8. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1160	Strepto- coccus		15. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	1530	Strepto- coccus	8. Tag 15. "	22. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1440	desgl.		vorher	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1360	Typhus		8. Tag	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	1400	Typhus + Streptococc. desgl.	8. Tag 15. "	22. "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1370	"		vorher	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1300	"		8. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
13	1400	Typhus + Streptococc. desgl.	8. Tag 15. "	22. "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1420	"		vorher	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1280	"		8. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
14	1300	Typhus	8. Tag 15. "	22. "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1010	Strepto- coccus		vorher	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	840	Typhus		8. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
15	1680	Strepto- coccus	8. Tag 15. "	22. "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1680	Typhus		vorher	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1490	Strepto- coccus		8. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

5000 auf 4000, stieg jedoch nach neuerer Dysenterieinjektion, trotz den vorhandenen Typhusagglutininen, wieder auf seine frühere Höhe.

Vor Abschluß unserer Versuche wollten wir noch auf eine Frage Antwort erhalten. Wie bekannt, kann man mit abgetöteten Bakterien gerade so Immunkörper erhalten wie mit lebenden. Es ist jedoch denkbar, daß es in bezug auf die Quantität der Immunkörper nicht gleichgültig ist, ob wir lebende oder abgetötete Bakterien verwenden. Möglicherweise können die sich vermehrenden Bakterien einen Teil der Immunkörper bilden; es können die sich neubildenden Bakterien im Gegensatz zu den abgetöteten einen fortwährend sich erneuernden Reiz repräsentieren, welcher so groß sein kann, daß er die Bildung der anderen Immunkörper hemmt oder sogar unmöglich macht.

Wir behandelten zwecks Untersuchung dieser Frage 2 Versuchstiere mit einer Typhusbacillenemulsion, welche gleich den vorhergehenden mittels einer 0,85-proz. NaCl-Lösung, jedoch mit 24 Stunden lang gezüchteten lebenden Bacillen hergestellt wurde. Nach 8 Tagen entnahmen wir dem Tiere zwecks Bestimmung des Agglutinationstiter Blut und injizierten ihm gleichzeitig eine Emulsion lebender Staphylokokken. Nun untersuchten wir zweitägig den Titer für beide Bakterien.

Tabelle IV. Lebende Typhusbacillen und Staphylokokken.

Tier-No.	Ge- wicht	Infek- tions- material	Tag der In- fektion	Zeit der Unter- suchung	Serumverdünnung																		
					Typhus											Staphylokokken							
					10	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	10	20	30	40	50	60	70
22	1200	Typhus Staphylo- coccus	8. Tag	vorher	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1020			8. Tag	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1020			10. "	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
	1000			12. "	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
	1000			14. "	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	
23	1320	Typhus Staphylo- coccus	8. Tag	vorher	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1300			8. Tag	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	1300			15. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—
	1300			13. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—
	1300			14. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—

Aus dieser Zusammenstellung ist zu ersehen, daß die gebildete Agglutininmenge von einer anderen Infektion nicht beeinflußt wird und die Infektion und Immunitätsentwicklung vom Standpunkte der Agglutininbildung verwandte Prozeduren sind. Im allgemeinen war die Quantität der gebildeten Agglutinine nach Infektion mit lebenden Bacillen geringer als nach Behandlung mit abgetöteten Bakterien. Ob dies individuelle Eigenschaften der Tiere waren oder ob die Quantität der sich bildenden Immunkörper nach der Infektion tatsächlich geringer ist, müssen neuere Untersuchungen feststellen.

Unsere Untersuchungen ergaben also (mit Ausnahme einiger weniger Fälle), daß die Menge der bereits vorhandenen Agglutinine durch eine neuere Infektion nicht vermindert wird, sondern sogar, von dieser unabhängig, noch zunehmen kann.

Daß die Bildung eines Immunkörpers diejenige eines anderen nicht beeinflußt, beweist Tier No. 19. Dieses Versuchstier wurde gleichzeitig

mit Typhus- und Dysenteriebacillen behandelt, wurde jedoch aus Versehen 10 Tage nachher, sowie nach 8 Tagen neuerdings zwecks Erhaltung hämolytischen Serums auch mit je 10 ccm defibrinierten Rinderblut behandelt. Das Serum des Versuchstieres enthielt also neben den Agglutininen auch Cytolsine, welche eine 5-proz. Rinderblutemulsion bei Zugabe des nötigen Komplements noch in einer Verdünnung von 1:4000 zu lösen vermochte. Die Agglutinine des Typhus und der Dysenterie verminderten sich trotz dem Vorhandensein der Cytolsine nicht, im Gegenteil sie vermehrten sich.

Unsere Ergebnisse sind vom Standpunkte der modernen Immunitätsforschung erklärlich. Die Bildung der Immunkörper lokalisiert sich nach Ehrlichs Auffassung auf jene Zellen, welche das Toxin oder die Bakterien anzugreifen vermag. Versuche, welche dies beweisen, existieren bereits in bezug auf Tetanustoxin. Derjenige Stoff, welcher gewisse Zellen angreift, löst in diesen einen Prozeß aus, welcher in der Bildung von Immunkörpern gegen diesen Körper besteht. Die Bildung der Immunkörper geschieht hauptsächlich in jenen Zellen, zu welchen die haptophore Gruppe der Toxine Affinität besitzt. Wenn, wie dies die bisherigen Untersuchungen beweisen, die Immunkörper streng spezifisch sind, so entstehen verschiedene Immunkörper entweder in verschiedenen Zellen, oder dieselben Zellen produzieren an verschiedenen Zellteilen verschiedene Immunkörper, je nachdem die haptophore Gruppe des betreffenden Toxins Affinität zu den Zellteilen besitzt. Die mehrfache Immunitätskörperbildung beeinflusst einander nicht. Wir kennen keinen Prozeß, welcher die Zellarbeit anregt und andererseits gleichzeitig hindert. Dies wäre nur möglich, wenn die betreffenden Zellen durch den neuen Reiz plötzlich zugrunde gingen und, da Bildung neuerer Immunkörper verhindert wäre, nach Entfernung der vorhandenen die Zahl der Immunkörper im Organismus abnehmen würden. Eine so große Destruktion der Zellen wäre jedoch anatomisch nachweisbar. Wir fanden sie niemals; auch andere, welche sich mit ähnlichen Fragen beschäftigen, erwähnen nichts davon.

Wie bekannt, kommen auch im Normalserum verschiedene, voneinander unabhängig entstandene Immunkörper vor. Die Bildung verschiedener Immunkörper beeinflusst einander folglich nicht.

Schließlich wäre es möglich, daß die fertigen Immunstoffe einander im Blutserum beeinflussen und an ihrer Wirkung gegenseitig hindern.

Soche Hemmungen kommen vor. Nach Meisser und Döring verursacht das urämische Blutserum Hemmung der Hämolyse, doch dies geschieht nicht innerhalb ein und desselben Serums, was ja wegen der strengen Spezifität der Immunkörper undenkbar wäre.

Unsere Versuche beweisen also von neuem, daß gleichzeitig zwei verschiedene Infektionen bestehen können, welche voneinander unabhängig die Bildung spezifischer Immunkörper verursachen, ohne daß dieselben ihre Wirkung gegenseitig beeinflussen. Praktisch wichtig ist dies natürlich in solchen Fällen, wo für die Richtigkeit der Diagnose nur bakteriologische oder serologische Befunde in die Wagschale fallen.

Die verschiedenen Resultate Kayzers, Kraus' u. A. können wir nur so deuten, daß mit dem Vorschreiten der Infektion und der Vermehrung der Bakterien mehr Immunkörper gebunden werden, und vielleicht dies ihre scheinbare Verminderung verursachte. Auch in unseren Versuchen war ja die Bildung der im Serum nachweisbaren Immunkörper nach Behandlung der Tiere mit lebenden Bakterien geringer als

nach Behandlung mit abgetöteten Bacillen. Doch dies zu beweisen, genügen unsere wenigen Versuche nicht.

Wir wollen noch auf die Wichtigkeit der Frage bezüglich der polyvalenten Seren deuten. Wie bekannt, erwiesen sich einige dieser polyvalenten Seren brauchbar. Dies stimmt mit den aus unseren Resultaten gezogenen Folgerungen überein. Trotzdem zur Herstellung polyvalenter Seren verwandte Bakterien gebraucht werden, ist die Spezifität der Immunkörper so streng, daß sie voneinander differieren, was durch quantitatives Titrieren auch beweisbar ist. Wenn eine Infektion die Bildung eines anderen Immunkörpers beeinflussen würde, wäre dies noch viel leichter bei verwandten Bakterien denkbar, da es ja bei diesen noch leichter möglich wäre, daß die Haptophoren der einen Gruppe die Funktion der Zellen der anderen entziehen würde. Wenn dies nicht vorkommt, so ist es noch weniger bei Bakterien vorstellbar, welche voneinander so weit stehen, wie der *Bacillus typhi* und die Eitererreger.

Nachdruck verboten.

Isolierung und Reinigung der Immunkörper hämatolytischer Immunsera.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Budapest
(Direktor: Prof. L. v. Liebermann).]

Von **L. v. Liebermann** und **B. v. Fenyvessy**.

In Fortsetzung unserer bereits zum Teil mitgeteilten Untersuchungen über Isolierung der Hämagglutinine und Hämolysine¹⁾ gelang es uns mit Hilfe einer verhältnismäßig einfachen Methode, eiweißfreie Präparate aus hämatolytischen Immunseris herzustellen, welche die spezifischen Wirkungen des Ausgangsmaterials in erheblichem Maße besaßen.

Wir wollen im folgenden eine genaue Vorschrift für die Ausführung solcher Untersuchungen geben, finden es aber für nötig, zweierlei besonders hervorzuheben:

1) Man darf von diesen Vorschriften auch nicht in den allergeringsten Details abweichen, eine Forderung, die bei jeder analytisch-chemischen Untersuchung immer als selbstverständlich betrachtet, aber, wie es scheint, gerade auf dem Gebiete der Immunitätsforschung nicht immer beachtet wird.

2) Man darf bei Nachprüfungen kein anderes Untersuchungsmaterial als das von uns angegebene anwenden, denn wir haben einstweilen nur mit Seris von Kaninchen gearbeitet, die gegen Schweineblutkörperchen immunisiert waren, und man kann in Anbetracht der großen Verschiedenheiten, welche sich zwischen den Seris und Blutkörperchen verschiedener Herkunft zeigen, nicht von vornherein wissen, ob eine Methode, die für ein bestimmtes System ausgearbeitet wurde, auch für ein anderes ohne Abänderungen brauchbar ist.

Zu diesen Äußerungen veranlaßt uns eine Mitteilung von Kurt Meyer, welche in Bd. XLVI. Heft 4 dieses Centralblattes erschienen ist. Die unseren Befunden widersprechenden Resultate können offenbar

1) Arch. f. Hygiene. Bd. LXII. p. 322.

keine andere Ursache haben, als die nicht genügende Beachtung der Angaben unserer ersten Publikation.

Vorschrift zur Isolierung der agglutinierenden resp. hämolysierenden Bestandteile des Immunserums.

1) 3 ccm bei 56° C inaktivierten Immunserums werden mit 6 ccm einer 5-proz., aus gewaschenen Schweineblutkörperchen bereiteten Blutkörperchenemulsion vermischt und nach $\frac{3}{4}$ -stündigem Stehen im Thermostaten (bei 37°) scharf zentrifugiert.

Zu den jedesmal gleichzeitig ausgeführten Kontrollversuchen benutzen wir anstatt des Kaninchenimmunserums Schweineblutserum, welches ebenfalls auf 56° erhitzt und mit Schweineblutkörperchen im obigen Verhältnis vermischt wurde. Die letzteren wurden dann weiter immer genau so behandelt, wie die mit den Immunsustanzen beladenen Blutkörperchen. Es sei schon an dieser Stelle ausdrücklich hervorgehoben, daß diese Kontrollpräparate niemals agglutinierende oder hämatolytische Eigenschaften (Schweineblutkörperchen gegenüber) aufwiesen.

Die abzentrifugierten Blutkörperchen werden einige Male mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült, ohne die agglutinierte Masse zu zerschütteln, denn es geschieht häufig, daß bei vollkommenem Zerschütteln derselben — wahrscheinlich infolge der Agglutination¹⁾ — komplette Hämolyse eintritt. Wir haben uns durch quantitative Bestimmungen überzeugt, daß jener Anteil des Immunserums, welcher in der sehr geringen Menge des agglutinierten Rückstandes zurückgeblieben sein mag, bei der Entscheidung der Frage, ob die durch Säurewirkung isolierten Immunkörper tatsächlich an die Blutkörperchen gebunden waren, durchaus keine Rolle spielt.

2) Der abgespülte agglutinierte Rückstand wird mit 3 ccm einer $\frac{1}{100}$ Normalsalzsäure (bereitet mit physiologischer Kochsalzlösung) so lange geschüttelt, bis die ursprünglich rote Flüssigkeit einen bräunlichen Stich bekommt. Hierauf wird wieder zentrifugiert.

Hierzu sei bemerkt, daß die angegebene Menge Salzsäure manchmal nicht genügt, den erwähnten Farbumschlag, der ein erfolgreiches Weiterarbeiten verbürgt, in kurzer Zeit hervorzurufen. Dies muß der verschiedenen Resistenz der Blutkörperchen, die auch bei einer und derselben Tierart nicht immer gleich zu sein scheint, sowie der kräftigeren oder minder kräftigen Agglutination zugeschrieben werden. In einem solchen Falle muß die Säuremenge durch vorsichtiges Zufügen einer etwas konzentrierteren (z. B. $\frac{1}{25}$ n.) Säure vermehrt werden.

3) Der zentrifugierte Rückstand kann noch einmal mit 1—2 ccm $\frac{1}{100}$ n. HCl aufgeschüttelt und abzentrifugiert werden, um die Ausbeute zu vermehren.

Die klar abgegossenen, braun gefärbten Lösungen werden äußerst genau mit $\frac{1}{100}$ n. NaOH (gleichfalls mit 0,9 Proz. Kochsalz bereit) neutralisiert.

Die genaue Neutralisation ist dringend notwendig, denn die bei derselben entstehenden Niederschläge sind sowohl in Säure- wie auch in

1) Siehe v. Liebermann, Arch. f. Hygiene. Bd. LXII. p. 309.

Laugeüberschuß löslich. Man neutralisiert unter Anwendung der Tüpfelmethode und sehr empfindlichen Lackmuspapiers.

Wie schon gesagt, entsteht bei der Neutralisation ein Niederschlag. Derselbe vermehrt sich oft nach mehrstündigem Stehen, am besten bei Stehen über Nacht.

War der soeben erwähnte Farbumschlag nach der Salzsäurebehandlung nicht entschieden ausgesprochen, so entsteht bei der Neutralisation kein Niederschlag, und die weitere Reinigung ist sehr erschwert.

4) Der bei der Neutralisation entstandene Niederschlag wird wieder scharf abzentrifugiert, einmal mit 2—3 ccm physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen. Die vereinigten, nunmehr schon sehr schwach gefärbten Lösungen werden bis zur entschieden sauren Reaktion mit $\frac{1}{25}$ n. Salzsäure versetzt und mit reinstem Aether (Ae. pro narcosi) ausgeschüttelt. Es bildet sich eine gleichmäßige Emulsion. Nun wird zentrifugiert; nach dem Zentrifugieren beobachtet man das Vorhandensein dreier Schichten: eine untere wässrige, gewöhnlich schon farblose, eine mittlere, die aus einer gelatinösen Masse besteht, und eine obere, rot gefärbte Aetherschicht.

Hierzu sei bemerkt, daß auf die Reinheit des Aethers besonderes Gewicht zu legen ist. Er darf, mit Quecksilber geschüttelt, dieses nicht verändern; das Quecksilber muß seine spiegelnde Oberfläche behalten, d. h. es darf sich kein grauer oder gar schwarzer Ueberzug bilden.

5) Nach dem Zentrifugieren wird zunächst die gefärbte Aetherschicht abgegossen, was ziemlich leicht geht, da die darunter befindliche erwähnte gelatinöse Masse das Ausfließen der wässrigen Lösung verhindert. Nun wird die gelatinöse Masse mit einem dünnen Glasstab vorsichtig durchbohrt und durch die so entstandene Oeffnung die saure wässrige Lösung, welche die Immunkörper enthält, abgegossen. Sollte diese noch etwas gefärbt sein, so wird abermals mit frischem Aether ausgeschüttelt, wieder zentrifugiert und die Trennung der Schichten ähnlich wie oben bewerkstelligt.

6) Die abgegossene wässrige Schicht wird nun mit $\frac{1}{100}$ n. NaOH höchst genau neutralisiert. Es findet abermals eine Ausscheidung statt, die sich beim Schütteln mit dem obenerwähnten reinsten Aether noch vermehrt und zusammenballt. Es wird abermals zentrifugiert und die entstandenen Schichten, wie in Punkt 5 angegeben, voneinander getrennt. Die Immunkörper enthaltende neutrale wässrige Lösung ist, falls der Versuch gelungen, vollkommen klar und farblos.

7) Die absolut farblose, neutrale wässrige Lösung wird zur Entfernung der letzten Aetherspuren im Vakuum bis zur Hälfte eingengt. Man kann zur Beschleunigung eine Temperatur bis zu 45° C anwenden.

8) Die im Vakuum konzentrierte Flüssigkeit wird durch Zusatz von destilliertem Wasser auf ihr ursprüngliches Volumen gebracht. Nun wird in einer kleinen

Probe (etwa in 1 ccm) der Kochsalzgehalt durch Titrierung des Chlors bestimmt und je nach dem Ausfall der Bestimmung entweder durch Zusatz von destilliertem Wasser oder der entsprechenden Menge von NaCl der Salzgehalt der ganzen Flüssigkeit auf 0,9 Proz. gebracht.

Wir müssen einstweilen empfehlen, die Darstellung der Extrakte mit den von uns angegebenen kleinen Mengen auszuführen und zu den weiteren Untersuchungen lieber mehrere solcher Extrakte zu vereinigen. Wir sind zu dem Zwecke, um genügendes Material für die eingehendere Untersuchung der Immunkörper zu schaffen, damit beschäftigt, unsere Methode auch für große Mengen auszuprobieren.

9) Mit der nach Punkt 8 dargestellten Lösung werden nun folgende Versuche ausgeführt:

A. Reaktionen auf Eiweißkörper. Die Biuretreaktion, die Reaktionen mit Sulfosalicylsäure, mit Ferrocyankalium und Essigsäure, als die empfindlichsten Eiweißreaktionen fallen negativ aus, selbstverständlich auch die weniger empfindlichen, wie die Xanthoprotein-, Millonsche Reaktion usw. Ein Erwärmen mit alkalischer Bleilösung läßt keinen Schwefelgehalt erkennen.

Bezüglich der erwähnten Eiweißreaktionen muß bemerkt werden, daß die Biuretreaktion fast immer negativ ausfällt, die Reaktion mit Sulfosalicylsäure aber mitunter, wenn die Reinigung nicht ganz vollständig gelungen ist, minimale Trübungen erkennen läßt. Was wir aber in bezug auf Agglutination und hämatolytische Fähigkeit in Punkt C mitteilen, bezieht sich auf — soweit dies unsere feinsten Reagentien zu beurteilen gestatten — sicher eiweißfreie Präparate.

B. Dialyse. Die 24 Stunden lang gegen fließendes Wasser in Fischblasenkondomen dialysierte Lösung ist sowohl agglutinierend als (bei Zusatz von Komplement) hämatolytisch wirksam. Wir haben zwar den Trockenrückstand solcher dialysierten Lösungen weiter untersucht, behalten uns aber die Mitteilung der Ergebnisse dieser Versuche für eine spätere Publikation vor, da unser Material für sichere Angaben noch nicht ausreicht.

C. Prüfung der Lösungen auf agglutinierende und hämatolytische Wirksamkeit; Nachweis der Spezifität. 1 ccm der zu prüfenden Lösung agglutiniert 1 ccm einer 5-proz. Schweineblutkörperchenemulsion schon nach kurzem Verweilen im Thermostaten, längstens aber in $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunden. Auf Blutkörperchen von anderen Tierarten, wie von Pferd, Rind, Meerschweinchen, Kaninchen, Katze, Gans, ist sie ohne jegliche Wirkung. Wird 1 ccm der Lösung $\frac{1}{2}$ —1 ccm eines komplementhaltigen Serums, z. B. Schweine- oder Pferdeblutserums, zugesetzt, so tritt unter denselben Umständen, wie früher die Agglutination, Hämatolyse ein, die ebenso spezifisch ist, d. h. nur bei Anwendung von Schweineblutkörperchen eintritt, wie die Agglutination.

D. Bestimmung der Ausbeute an Agglutinin bezw. Hämolysin¹⁾. 6 ccm eines Immunserums wurden mit 12 ccm 5-proz. Schweineblutkörperchen zusammengebracht; nach $\frac{3}{4}$ -stündigem Stehen im Thermostaten wurden die agglutinierten Blutkörperchen abzentrifugiert und dreimal gewaschen.

1) Wir sind auch jetzt noch nicht in der Lage, uns über die Identität oder Nichtidentität von Agglutinin und Hämolysin zu äußern. Wenn wir trotzdem diese Ausdrücke gebrauchen, so halten wir uns nur an das Herkommen und wollen nur die beobachteten Wirkungen bezeichnen.

Die verwendeten 6 ccm des Immunserums enthielten nach der direkten Bestimmung nach der Verdünnungsmethode 2700 Agglutinationseinheiten, d. h. 1 ccm des 450-fach verdünnten Serums mit 1 ccm 5-proz. Blutkörperchenemulsion vermischt, zeigte noch (nach 2-stündigem Aufenthalt im Thermostaten) deutliche, mit freiem Auge erkennbare Agglutination.

Von diesen gesamten 2700 Agglutinationseinheiten wurden aber durch die Blutkörperchen nur 900 gebunden, denn eigene Versuche mit der abzentrifugierten Flüssigkeit und der zur Abspülung verwendeten Kochsalzlösung haben gezeigt, daß diese Flüssigkeiten noch 1800 Agglutinationseinheiten enthielten.

Der Ausbeuteberechnung müssen aber nur die tatsächlich gebundenen 900 Agglutinationseinheiten zugrunde gelegt werden.

Wurde nun der mit verdünnter Salzsäure erhaltene, nur genau neutralisierte, aber nicht weiter gereinigte Extrakt zur Bestimmung der Ausbeute verwendet, so ergab sich, daß er 540 Agglutinationseinheiten enthielt. Die Ausbeute betrug daher 60 Proz. der an die Blutkörperchen tatsächlich gebundenen Agglutininmenge.

Wurde aber die Reinigung des Extraktes bis zum völligen Verschwinden der Eiweißreaktionen getrieben, so erhielten wir aus derselben Menge nur 180 Agglutinationseinheiten, d. h. eine Ausbeute von nur 20 Proz. Die Verluste rühren aber zum Teil daher, daß man bei den verschiedenen Operationen (Abgießen etc.) viel Flüssigkeit verliert.

Wir haben oben bei Punkt 1 erwähnt, daß es in der Regel nicht ratsam ist, bei der Isolierung der Immunkörper den agglutinierten Rückstand beim Auswaschen kräftig zu zerschütteln, da es häufig vorkommt, daß unter solchen Umständen starke Hämolyse eintritt. In dem soeben mitgeteilten Versuch wurde aber energisch geschüttelt, und es entstand durch teilweise Hämolyse ein Verlust an gebundenem Agglutinin.

Bezüglich der hämatolytischen Wirksamkeit der Extrakte stehen uns zwar keine so genauen Bestimmungen zur Verfügung, wie die obigen, doch können wir immerhin sagen, daß die Ausbeute nicht unbedeutend ist. Wir erhielten noch — bei Verwendung von je 1 ccm Blutes und Normalserums — komplette Hämolyse, in einem Falle mit 1 ccm eines 5-fach, in einem anderen Falle eines 10-fach verdünnten eiweißfreien Extraktes, d. h. auf die ganze Menge der betreffenden Extrakte (6 ccm) berechnet 30—60 hämatolytische Einheiten. Die hämatolytische Wirksamkeit der Extrakte war immer eine viel geringere und auch unsicherere als die agglutinierende.

Es spielen da verschiedene Momente eine Rolle.

Es kommt zunächst in Betracht, daß die hämatolytische Wirkung der von uns verwendeten Immunsera stets wesentlich geringer war als die agglutinierende. Weiter haben wir gefunden, daß die Säurewirkung leichter zur Zerstörung der hämatolytischen als der agglutinierenden Wirkung führt.

Dies geht z. B. aus dem folgenden Versuch hervor:

2 ccm eines recht wirksamen inaktivierten Immunserums wurden mit 6 Tropfen einer 2-fach normalen Salzsäure angesäuert und erst nach $\frac{1}{4}$ -stündigem Stehen bei Zimmertemperatur mit der äquivalenten NaOH-Menge versetzt (S. I). 2 ccm desselben Immunserums erhielten die gleiche Säuremenge, die aber vor dem Zusatz genau neutralisiert worden war (S. II).

Beide Mischungen wurden dann mit $\frac{1}{25}$ n. HCl bis zur amphoteren Reaktion versetzt und mit Kochsalzlösung auf je 6 ccm aufgefüllt. Je 3 ccm dieser Flüssigkeiten wurden mit je 1 ccm eines Normalserums und einer 5-proz. Schweineblutkörperchenemulsion vermischt und in den Thermostaten gestellt.

In der mit S. I angestellten Probe trat schon nach kurzer Zeit starke Agglutination, aber selbst nach 2 Stunden keine Spur von Hämolyse ein; in der mit S. II angestellten war aber die Hämolyse schon in wenigen Minuten komplett.

In der zweiten Hälfte von S. I und S. II wurde der Agglutinin-gehalt nach der Verdünnungsmethode mit folgendem Resultate bestimmt: 1 ccm des S. I enthielt 200 Agglutinationseinheiten, 1 ccm des S. II aber 600.

Es wurde also in diesem Versuche die hämatolytische Wirkung des Serums durch die Säure ganz vernichtet, aber auch die agglutinierende deutlich (auf ungefähr $\frac{1}{3}$) herabgesetzt. Letztere Beobachtung stimmt mit den Angaben von Eisenberg und Volk¹⁾, sowie von A. Wassermann²⁾ über Typhusagglutinine überein.

Aus dem obigen Versuche, sowie aus den zitierten Literaturangaben geht hervor, daß bei dem beschriebenen Isolierungsverfahren die angegebene Säuremenge resp. Konzentration nicht überschritten werden darf. Die vorgeschriebenen Mengen- und Konzentrationsverhältnisse sind so gewählt, daß dabei einerseits die Schädigung der Immunkörper möglichst gering ausfällt, andererseits aber die zur Reinigung erforderlichen Veränderungen der Eiweißkörper und des Blutfarbstoffes erreicht werden.

Es sei noch erwähnt, daß wir auch versucht haben, die gebundenen Immunkörper anstatt mit Salzsäure — nach dem Vorgehen von Landsteiner und seiner Mitarbeiter³⁾ — mit warmer Kochsalzlösung den Blutkörperchen zu entziehen, obwohl diese Methode von vornherein keine gute Ausbeute an Immunagglutininen versprach (siehe Landsteiner u. Reich l. c.).

Wir haben gleiche Mengen von Blutkörperchen, die mit demselben Immunserum in gleichem Verhältnisse behandelt wurden, einerseits mit Salzsäure ausgezogen, andererseits mit je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung bei 45° C dreimal je $\frac{1}{2}$ Stunde lang digeriert. Bei der quantitativen Untersuchung fanden wir, daß der Salzsäureextrakt etwa doppelt so viel Agglutinin enthielt, als die vereinigten drei Kochsalzlösungen.

Die Methode von Landsteiner war also für unsere Zwecke nicht verwendbar.

Es sei schließlich erwähnt, daß auch Pick⁴⁾, sowie Landsteiner und Jagić⁵⁾ sich mit der Darstellung und Reinigung von Agglutininen befaßt haben. Pick versuchte das Agglutinin der Pseudoglobulinfraktion durch wiederholte Ammonsulfatfällung und durch Alkoholbehandlung zu reinigen. Er erhielt eine Lösung, die noch in einer Verdünnung von

1) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XL. p. 155.

2) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLI. p. 267.

3) Landsteiner, Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 46. — Landsteiner u. Jagić, ebenda. 1903. No. 18. — Landsteiner u. Reich, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIX. p. 712 etc.

4) Hofmeisters Beiträge. Bd. I. p. 466.

5) l. c.

1:500 agglutinierte, nur Spuren von koagulablem Eiweiß enthielt, schwache Biuretreaktion, deutliche Millonsche Reaktion, aber keine Schwefelbleireaktion gab. Bei der weiteren Reinigung nahm mit dem Eiweißgehalt auch die Wirksamkeit des Präparates ab.

Landsteiner und Jagić versuchten die durch warme Kochsalzlösung gewonnenen Extrakte, die noch ca. 2‰ Eiweiß enthielten, durch Wiederholung des Bindungs- und Abspaltungsversuches vom Eiweiß zu befreien.

Zusammenfassung der Resultate.

Es gelingt mit Hilfe von verdünnter Salzsäure die an die roten Blutkörperchen gebundenen Immunkörper in guter Ausbeute abzuspalten.

Die auf diese Weise erhaltenen Lösungen wirken auf Schweineblutkörperchen stark agglutinierend und hämatolytisch. Auf Blutkörperchen von anderen von uns untersuchten Tierarten sind sie wirkungslos. Die erwähnten Wirkungen der Extrakte sind also spezifisch.

Von diesen salzsauren Extrakten ausgehend, lassen sich — mit Hilfe des von uns angegebenen Verfahrens — Lösungen von erheblicher spezifischer, agglutinierender und hämatolytischer Wirksamkeit herstellen, welche sich selbst den empfindlichsten Eiweißreagentien gegenüber als eiweißfrei erweisen.

Die wirksamen Substanzen können auch noch durch Dialyse gereinigt werden, da sie tierische Membran nicht passieren.

Nachdruck verboten.

A comparative study of media for the detection of Bacillus coli in drinking water.

[From the Sheffield Laboratory of Bacteriology and Hygiene,
Yale University, New Haven, Conn. U. S. A.]

By George Edward Gage.

Within the last few years considerable work has been done along the line of media study for the detection of *Bacillus coli* in drinking water, and various methods have been applied. Studies have been made to determine the efficiency of any one presumptive test or comparative efficiency of two or more media, but so far as the writer is aware, no work has been done along lines analogous to those followed out in this paper.

In this laboratory, various presumptive tests have been employed for several years. At the suggestion of Professor Rettger, the present investigation was undertaken in order to determine the best preliminary and plating methods for the detection of *B. coli* in water supplies.

In many laboratories in America and England, lactose-neutral-red media have been employed in making presumptive tests, followed by isolation on ordinary gelatine and agar-agar and identifying the organism

by its cultural and microscopic characteristics. Various modifications of bile salt bouillon and agar have furnished media for presumptive work, while Smith's solution offers another means to this end. Several other media, based on these three have been employed to a greater or less degree.

For my work, lactose-neutral-red broth, the bile salt broth of MacConkey and Hill and Smith's solution were used as media for the comparative study of presumptive tests. For plating, Endo's medium¹⁾ and lactose-litmus agar were employed, special efforts being made to determine the efficiency of Endo's medium in ordinary routine work.

Rothberger²⁾ found that *B. coli* reduced solutions of neutral red, and Scheffler and others have confirmed his results. Jackson³⁾ devised the lactose-bile medium and strongly advocated it. Sawin⁴⁾ at the Mt. Kisco Laboratory found that Jackson's lactose-bile medium afforded a rapid means of detecting *B. coli*, and concluded that the per cent of efficiency is higher, when lactose-bile solution is used, than Smith's solution, and in the case of questionable or contaminated waters better results are obtained with the lactose-bile medium than that of Smith. Irons⁵⁾ claims that the neutral red reaction, when used alone is misleading and cannot be depended upon for diagnosis of *B. coli*, since the reaction is given, under the conditions of the test, by a number of other common water-organisms.

Stokes⁶⁾, on the other hand, confirmed Macgill's⁷⁾ results by examining 567 gas formulas, and found only six corresponding to the formulas in lactose-neutral-red bouillon of *B. coli* which failed to give the other tests for the colon bacillus. He concluded that the occurrence of from 30 to 50 per cent gas; the production of one part CO₂ to 2 H₂, and the neutral-red yellow-red contrast reaction in lactose-bouillon in the Smith fermentation tube furnished the characteristic tests for *B. coli*.

Weston and Tarbett⁸⁾ using Jackson's lactose-bile prepared from fresh ox bile and Smith solution for comparative study, found that of 63 samples, 21 gave no gas with either medium, 18 produced gas in both media, and 24 in dextrose broth (Smith's solution) but not with lactose-bile media.

According to Jackson⁹⁾ the lactose-bile medium gives very good results, since most species of bacteria other than *B. coli* are killed or restrained, thus allowing free action of the intestinal organism. Sodium glycocholate is used as the inhibiting salt. According to this writer, the test shows that the cholic acid radical is the effective agent.

Savage¹⁰⁾ concluded that a positive neutral-red reaction, while not absolutely diagnostic of *B. coli*, yet in the vast majority of cases points to the presence of that organism. Accordingly, he claimed that a nega-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 109.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XIV. p. 513.

3) Biological studies by the pupils of William Thompson Sedgwick, University Chicago Press. 1906.

4) Journal of Infectious Diseases. Suppl. May 1907. p. 33.

5) Journal of Hygiene. Vol. II. 1902. p. 314.

6) Journal of Infectious Diseases. Vol. I. 1904. p. 341.

7) Journal of Hygiene. Vol. I. 1901. p. 430.

8) Journal of Infectious Diseases. May 1907. p. 39.

9) Journal of Infectious Diseases. Suppl. May 1907. p. 30.

10) Journal of Hygiene. Vol. I. 1901. p. 437.

tive reaction does not exclude *B. coli*, but renders its presence highly improbable.

Most papers dealing with Smith solution come to the conclusion that a large amount of gas is necessary to point to the presence of *B. coli*, due to the fact that other bacteria present in water will ferment glucose to a certain extent, and that the gas production beyond this point is due to the action of *B. coli*. Dr. Theobald Smith lays stress upon the amount of gas produced and upon the ratio of H to CO₂, as of value in separating *B. coli* from certain other organisms.

Mac Conkey and Hill¹⁾ used glucose in order to include other organisms along with *B. coli*, such as *B. enteritidis* (Gärtner). They claimed that when lactose was used many organisms of importance were overlooked. In sub-culture work, however, they used lactose and neutral-red to bring about a selection of different strains. Unfortunately, this glucose-bile salt medium does not make selection between typical and atypical *B. coli*, nor does it exclude some other organisms capable of acid and gas formation in the presence of sodium taurocholate.

A comparative study was undertaken by me, with samples of drinking water taken from different localities in and about New Haven.

The samples were collected from reservoirs, wells and springs, and were immediately brought to the laboratory. Agar and gelatine plates were poured to determine the number of bacteria per c. c., and then 10 c. c., 5 c. c., and 1 c. c. quantities of each sample were introduced into lactose-neutral-red, bile salt broth, and dextrose bouillon (Smith solution) in fermentation tubes, 5 duplicates being used with each quantity of water, making in all 45 fermentation test-tubes for each sample in question.

Preparation of media.

1) Bile salt broth, Mac Conkey and Hill. Prepared as follows: To 1000 c. c. of distilled water were added 10 grams of dextrose, 20 grams of Witte's peptone, 5 grams of sodium taurocholate, 5 grams of sodium chloride and neutral litmus. Boiled to dissolve, filtered, tubed and sterilized.

2) Lactose-neutral-red broth: Make ordinary +.8 bouillon, add 1 per cent lactose and 2 per cent neutral-red (0.5 per cent aqueous solution), filter, tube and sterilize.

3) Smith solution: Prepared as follows: To ordinary bouillon +.8 reaction, add 1 per cent dextrose. Boil to dissolve, filter, tube and sterilize.

4) Endo's medium: Prepared according to S. Endo²⁾. It consists principally of lactose, fuchsin and sodium bisulphite as the chemical factors. It was prepared with great care to obtain a medium as clear as possible, to allow all coli-like organisms to produce chemical change which would simulate a colon reaction. The value of this medium for the detection of *B. coli* is due to the fact that the fuchsin (HCL·NH₂·C₆H₃·(CH₃)CH< $\begin{smallmatrix} \text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2 \\ \text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2 \end{smallmatrix}$, rosaniline hydrochloride) used in its preparation is reduced to a leuco-base (NH₂·C₆H₃·(CH₃)CH< $\begin{smallmatrix} \text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2 \\ \text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2 \end{smallmatrix}$)

1) British med. Journal. 1906. p. 1521.

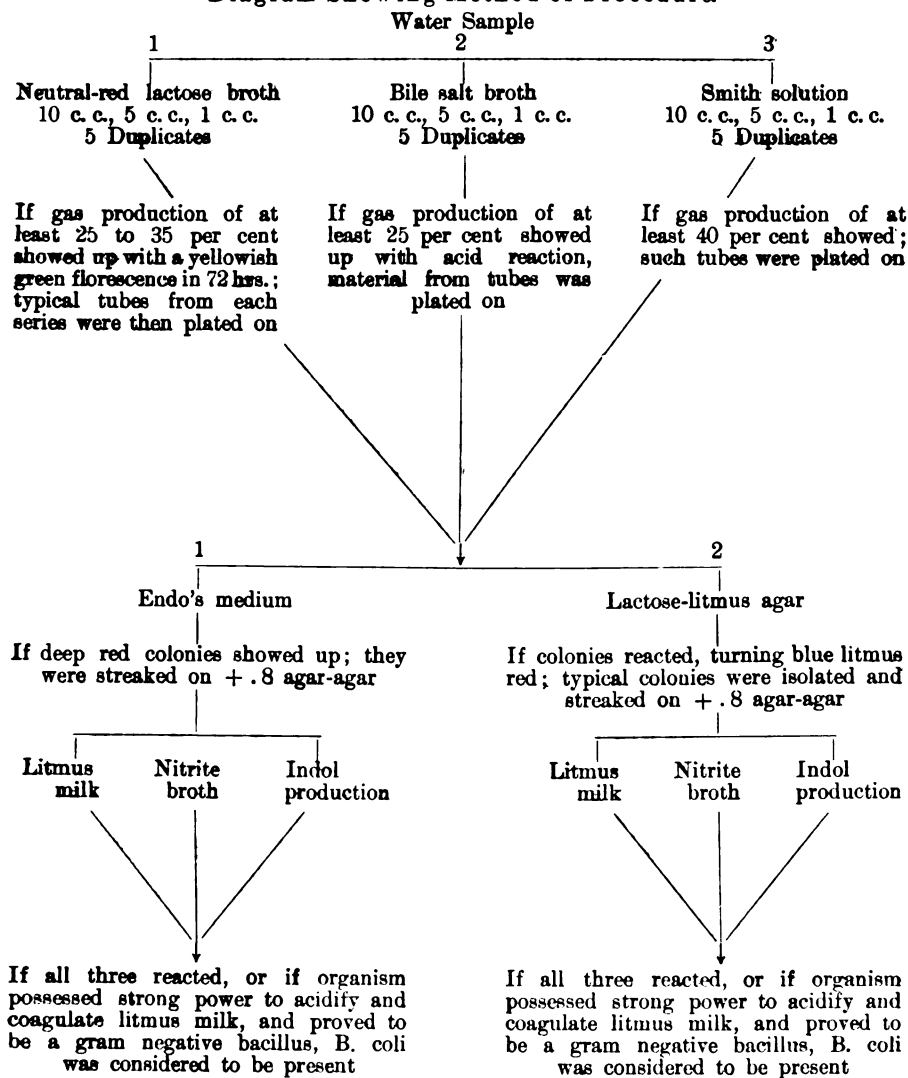
2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 109.

on addition of sodium bisulphite, and when acid which is formed by *B. coli* reacts with this leuco-base it again produces the red color.

Method of procedure.

The sample of water in question was introduced into fermentation tubes containing (I) lactose-neutral-red bouillon, (II) bile salt broth and (III) Smith solution, in 10 c. c., 5 c. c. and 1 c. c. quantities, five duplicate tests being made with each amount of water.

Diagram Showing Method of Procedure.



All tubes were carefully labeled and put in the incubator. Gas formation was noted at the end of 48 and again at the end of 72 hours. If gas to the extent of 25 to 30 per cent was produced, with the yellowish green fluorescence, in 72 hours in lactose-neutral-red broth, typical

tubes from each sample were plated on (I) Endo's medium and (II) on litmus-lactose-agar, Drigalski-Conradi plates being used.

If deep red colonies showed up on Endo's medium in 48 to 72 hours, and colonies turned the litmus of the litmus-lactose-agar red, then inoculation streaks were made on + 8 agar from each set of plates showing a characteristic change in the medium in question. The organisms were tested for their power to acidify and coagulate litmus milk, to denitrify and to form indol. If they were found capable of all three reactions; or possessed a strong power to acidify and coagulate litmus milk and proved to be a gram negative bacillus, on microscopic examination, then a typical *B. coli* was concluded to be present.

The same procedure was followed out in the case of the bile-salt broth and Smith solution (see diagram showing method of procedure).

Determinative reactions for the presence of *B. coli*.

The acidification and coagulation tests were made in litmus milk, 3 days being allowed for complete reaction. Indol was detected in peptone broth by the use of H_2SO_4 and Riva's¹⁾ modification. Nitrite reaction was determined in $NaNO_3$ broth by the use of α -amido naphthalene acetate and sulphanilic acid, a cherry red color being formed in the presence of nitrite.

In dealing with bacteria which have to do with our water supplies, I soon realized the necessity of knowing the specific properties of those organisms most frequently found. In this study the special chemical characteristics of *B. coli* have been carefully noted. Some of those which were studied in particular, were the difference in the indol production between different strains of *B. coli* met with during the progress of the work. Notes were also made on the power of such strains to produce acid, and to what extent that acid brought about chemical changes in the different media.

The results.

Table showing the number of samples giving positive reactions in the different media.

	No. samples giving a positive reaction	No. reacting with Endos	From Endo plates			No. samples reac- ting an L. L. Agar	From L. L. Agar plates			No. samples actually containing B. coli
			No. giving posi- tive reaction with L. Milk	No. samples gi- ving a positive nitrite reaction	No. samples giving + Indol reaction		No. samples giving + litmus milk reaction	No. samples giving + nitrite reaction	No. samples giving + indol reaction	
Neutral-red 10 c.c.	17	16	15	14	9	10	10	9	6	15
Neutral-red 5 c.c.	12	9	8	8	6	7	6	4	4	9
Neutral-red 1 c.c.	7	5	5	4	2	3	5	3	1	5
Bile-salt Mac Conkey & Hill 10 c.c.	13	10	10	9	8	8	7	5	3	10
Bile-salt M. & H. 5 c.c.	12	8	8	6	4	4	4	4	0	8
Bile-salt M. & H. 1 c.c.	8	5	3	4	3	3	3	3	1	5
Smith sol. 10 c.c.	17	12	11	10	7	8	7	6	4	11
Smith sol. 5 c.c.	14	10	9	9	6	5	5	5	3	9
Smith sol. 1 c.c.	8	4	4	4	3	4	4	4	2	4

1) The Journal Infectious Diseases. Nov. 15. 1907. p. 641.

Of the 40 samples of water examined, 17 gave a positive reaction in lactose-neutral-red broth in tubes having 10 c. c. of the water in question; 12 gave a positive reaction in the tubes having not less than 5 c. c., and only 7 samples gave positive reaction in 1 c. c. inoculations.

Of the 40 samples, 13 gave a positive reaction in the bile salt broth of Mac Conkey and Hill in 10 c. c. quantities; 12 in 5 c. c. quantities and 8 in 1 c. c. quantities.

Of the 40 samples, 17 gave a positive reaction in Smith solution in 10 c. c. quantities, 14 in 5 c. c. quantities and 8 in 1 c. c. quantities.

The next problem in the work was to determine how many of these tubes showing a positive reaction really contained *B. coli*.

I. Neutral-red broth.

Of the 17 samples giving a positive reaction in 10 c. c. quantities, 16 gave a positive reaction on Endo's medium, as contrasted with 10 on lactose-litmus agar; of the 12 giving a positive reaction in neutral red in 5 c. c. quantities, 9 gave it on Endo's medium as contrasted with 7 on litmus-lactose agar; of the 7 giving a positive reaction in 1 c. c. quantities, 5 reacted on Endo's as compared with three on lactose-litmus agar.

According to further tests, 15, 9 and 5 samples respectively contained *B. coli*. In two of the series there was only one sample among the number giving a positive Endo reaction which on further examination failed to show the presence of *B. coli*; and in the other all samples reacting positively on Endo's medium were proved to contain *B. coli* by further tests.

II. Bile salt broth of Mac Conkey and Hill.

Of the 13 samples giving a positive reaction in 10 c. c. quantities, 10 gave it on Endo's as compared with 8 on lactose-litmus agar. Of the 12 giving a positive reaction in 5 c. c. quantities, 8 gave the test on Endo's as compared with 4 on litmus-lactose agar. Of the 8 reacting in 1 c. c. quantities, 5 gave a reaction on Endo's as compared with 3 on litmus-lactose agar.

III. Smith solution.

Seventeen samples gave a positive presumptive test in the 10 c. c. quantities, 12 reacting with Endo's as compared with 8 on litmus-lactose agar. In 5 c. c. quantities 14 reacted positively, 10 giving a positive Endo's test, as contrasted with 5 on litmus-lactose agar. In 1 c. c. quantities 8 reacted positively, 4 giving a positive test on Endo's. These four also reacted with litmus-lactose agar.

Comparison of efficiency of Endo's medium and lactose-litmus agar.

These tests show that a slight reaction is more readily detected by Endo's medium than by litmus-lactose agar. Since such marked differences occurred in the results obtained with the two media, I was led at the start to think that possibly the litmus-lactose agar was at fault, and so I tested the medium with a typical *B. coli* strain which was kept in my stock and found it to be all right. One lot, however, failed

afterward to give a positive reaction with my stock culture. The results obtained from the work in which this was used were rejected.

Endo's medium undoubtedly will show a smaller trace of acid than lactose-litmus agar, and may be used as a step in detecting *B. coli* of the less active type. In dealing with *B. coli* of but weak acid producing power, I believe that litmus-lactose agar cannot be relied upon for the most accurate diagnostic work.

Discussion of results.

In collecting the results of the investigation, we see that lactose-neutral-red broth appears to give us the most efficient medium for a presumptive test.

I agree with Savage, Irons and others, in that there are some other common water-organisms which reduce lactose-neutral-red broth. But these organisms, as has been my experience, will not form 25 to 30 per cent gas, nor, except in rare cases, form an amount of gas in excess of that amount.

In the use of lactose-neutral-red broth for presumptive work, one must understand the limits of the test. The results stated in this paper are based on a reaction which calls for 25 to 30 per cent gas formation, with reduction of the neutral red, three days being allowed for a complete reaction.

In the bile-salt broth of Mac Conkey and Hill, under the conditions of the test, a reaction invariably took place in a shorter time. It did not act so readily, however, when but very few colon bacilli were present, nor is the reaction so clearly defined for the strains of *B. coli* which are capable of bringing about but very weak chemical changes. On the other hand, for detecting appreciable numbers of *B. coli*, it undoubtedly furnishes a quicker method than lactose-neutral-red broth.

For accurate work, as will be seen by the results in the table, lactose-neutral-red broth offers special advantages. It gave a positive reaction with 17 samples of the waters in question, of which 15 were proven to contain *B. coli*. With the bile salt, 13 reacted in this medium, 10 actually containing *B. coli*.

Table showing the number of samples reacting (+) in the different media and No. samples actually containing *B. coli*.

	Positive reactions	No. actually containing <i>B. coli</i>
Neutral red broth		
10 c. c. inoculation	17	15
5 c. c. "	12	9
1 c. c. "	7	5
Bile salt		
10 c. c. inoculation	13	10
5 c. c. "	12	8
1 c. c. "	8	5
Smith solution		
10 c. c. inoculation	17	11
5 c. c. "	14	9
1 c. c. "	8	4

Another glance at the table will show that among the number of samples reacting with Smith solution, those which actually contain the colon bacillus are appreciably fewer. For example, from 17 positive reactions in this medium, 11 actually contained *B. coli*.

This medium does not make selection between typical and atypical *B. coli* and does not exclude many organisms which have the power to ferment glucose. The detailed work of measuring the ratio of H to CO₂ and trying to eliminate other organisms offers only approximate diagnostic values. So far as I have been able to understand the test, it furnishes a slow method of diagnosis for the colon bacillus.

In making determinations on Endo's medium, it is necessary at this point to state the details involved in assuming the presence of *B. coli*. Fully 48 hours must be allowed for a complete reaction. A pink or light red coloration is not sufficient. If in 48 hours dark red colonies show up, *B. coli* may be assumed to be present. Several other organisms, as *Streptococcus* and *Staphylococcus*, will give more or less coloration, but they are easily distinguished from the *coli* colonies. *B. typhi*, on the contrary, produces very little or no acid.

The conclusions of this paper may be summed up as follows:

- 1) Lactose-neutral-red broth, when the limits of the test are fully understood, offers a good means of making presumptive tests for *B. coli* in drinking water.

- 2) The bile-salt broth of Mac Conkey and Hill also is a good medium for making rapid tests, and particularly when the organism is present in appreciable numbers.

- 3) Smith solution does not give results as uniform as the other two methods. It requires considerable work to eliminate other organisms, therefore it does not offer as rapid means of diagnosis.

- 4) Endo's medium, as shown by the conditions of these tests, is of inestimable value in determining the actual presence of *B. coli*.

- 5) Lactose-litmus agar is not a very desirable medium for plating the organism, since it does not react readily to the smaller traces of acids produced by different strains of the colon bacillus.

I take pleasure in acknowledging my indebtedness to Professor Leo F. Rettger for his valuable suggestions and help in this work.

Inhalt.

- Arndt**, Studien zur Immunität und Morphologie bei Vaccine, p. 237.
- Belfanti, S.**, Ueber antitoxisches und antimikrobisches (bivalentes) Diphtherieserum, p. 248.
- Gage, George Edward**, A comparative study of media for the detection of *Bacillus coli* in drinking water, p. 280.
- Galli-Valerio, B.**, Recherches expérimentales sur une sarcine pathogène, p. 177.
- Hottinger, Robert**, *Bacillus suipestifer*. (Schluß), p. 186.
- Kentsler, Julius** und **Benczur, Julius**, Agglutination bei Mischinfektion, p. 263.
- Konrádi, Daniel**, Ist die Wut vererbbar? Ist das Blut Lyssakranker infektiösfähig? p. 203.
- v. Liebermann, L.** und **v. Penyvesy, B.**, Isolierung und Reinigung der Immunkörper hämatolytischer Immunsera, p. 274.
- Riemer**, Ueber eine nach Genuß von Leberwurst beobachtete Fleischvergiftung und deren Erreger, p. 169.
- Sittler, Paul**, Beiträge zur Bakteriologie des Säuglingsdarmes. (Schluß), p. 145.
- Wolff-Eisner, Alfred**, Die Bindungsverhältnisse der Organgewebe gegenüber Toxinen und ihre klinische Bedeutung für Inkubation und natürliche Immunität. (Schluß), p. 213.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung, von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Experimentelle Untersuchungen über Tuberkulose.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Straßburg und aus der bakteriologischen Abteilung der chemischen Fabrik auf Aktien vorm. E. Schering, Berlin.]

Von Prof. Dr. E. Levy, Dr. Franz Blumenthal
und Dr. med. vet. A. Marxer.

2. Mitteilung.

Ueber Immunisierungs- und Behandlungsversuche kleiner Laboratoriumstiere gegen experimentelle Tuberkulose vermitteltst Tuberkelbacillen, die durch chemisch indifferente Stoffe abgetötet bzw. abgeschwächt sind.

Die Schutzimpfung kleiner Laboratoriumstiere, besonders von Meerschweinchen, gegen Tuberkulose gehört zu den schwierigsten Aufgaben der experimentellen Forschung. Wir haben dieselbe mit unseren durch chemisch indifferente Mittel, wie Glyzerin, Harnstoff, Galaktose, abgetöteten und abgeschwächten Tuberkelbacillen versucht. Durch unsere Abtötungsmethode werden die Antigene der Bakterien ja möglichst geschont; sie bleiben infolgedessen zu Immunisierungszwecken und zur Erhöhung der Widerstandskraft geeignet. Außerdem können wir die Behandlung mit den genannten Stoffen nur zur Abschwächung der Bacillen heranziehen und auf diese Weise die Wirkung einer vorhergehenden Einspritzung lebender, aber abgeschwächter Tuberkelbacillen gegenüber später eingeführten vollvirulenten Exemplaren desselben Typus studieren. Wir waren nämlich in den folgenden Versuchen stets bestrebt, die Vorbehandlung und nachherige Prüfung mit gleichen Bacillen vor sich gehen zu lassen, z. B. die Impfung mit abgetöteten resp. abgeschwächten menschlichen Tuberkelbacillen gegen dieselben menschlichen, aber nicht abgeschwächten, sondern noch vollvirulenten Bacillen usw. Wir gingen hierbei von der Ansicht aus, daß zu Schutz- und therapeutischen Zwecken sich die Antigene und die abgeschwächten Bakterien des eigenen Typus wirksamer erweisen und daß wir unter Umständen sogar mit der Möglichkeit rechnen müßten, für jeden besonderen Fall uns besondere Präparate herzustellen. Für die Einzelheiten der Abtötung und Abschwächung der Tuberkelbacillen, ihrer Virulenz etc. verweisen wir auf unsere 1. Mitteilung (dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XLVI).

In der Tabelle I haben wir diejenigen Tiere zusammengestellt, bei denen wir eine Immunität gegen an sich tödliche Dosen abgeschwächter Bacillen (1-täg.) zu erzielen strebten. Meist wurden diese Tiere, wenn die Immunisierung gelungen war, auf Immunität gegen vollvirulente unbehandelte Bacillen später geprüft.

Wir haben zwei verschiedene Wege eingeschlagen, um die Schutzimpfung gegen 1-tägige abgeschwächte Harnstoffbacillen zu erzielen. Die Tiere 182, 189—193 wurden mit untörtödlichen Dosen abgeschwächter Bacillen vorbehandelt und dann mit einer tödlichen Dosis in demselben Grade abgeschwächter Bacillen geimpft. Die Resultate sind mangelhafte. Nur Tier 182 erwies sich als geschützt. Alle anderen Tiere boten mehr

Tabelle I.

Vorbehandlung mit kleinen Dosen von abgeschwächten und großen von abgetöteten Bacillen. Abschwächung und Abtötung durch 25-proz. Harnstoff¹⁾.

M	Ge- wicht	Dosis	Resultat
182	360	16. Jan. $\frac{1}{100}$ mg 1-täg. sc. L.A.H. 15. Mai 1 mg 1-täg. sc. R.S.B.	Am 5. Aug. zu weiteren Versuchen verwendet, da ohne Erscheinungen
193	270	18. Jan. $\frac{1}{100}$ mg 1-täg. sc. L.A.H. 7. April 1 mg 1-täg. sc. R.S.B.	16. Mai getötet, R.S.B.-Drüse, sonst 0
191	200	18. Jan. $\frac{1}{60}$ mg 1-täg. sc. L.A.H. 7. April 1 mg 1-täg. sc. R.S.B.	16. Mai R.S.B.-Drüse, Bronchial-, Portal- und Mesenterialdrüsen ge- schwollen, Milz u. Leber spärlich Knötchen
192	290	wie 191	wie 191
189	280	18. Jan. $\frac{1}{10}$ mg, sonst wie 192	Bronchialdrüsen geschwollen, sonst 0. Injektionsstellen frei
190	250	18. Jan. wie 189	R.S.B.-Drüse, Bronchial-, Portal- u. Mesenterialdrüsen geschwollen, Lunge, Leber und Milz spärlich Knötchen
144	280	13. Okt. 1 mg 2-täg. sc. L.A.H. 16. Jan. $\frac{1}{500}$ mg 1-täg. sc. L.S.B. 7. April 1 mg 1-täg. sc. R.S.B.	5. Aug. frei von Erscheinungen
148	325	14. Okt. 1 mg 3-täg. sc. L.A.H. 16. Jan. $\frac{1}{600}$ mg 3-täg. sc. R.S.B. 19. März 1 mg 1-täg. R.A.H.	23. Mai tot, frei von Tuberkulose
150	300	14. Okt. wie 148 16. Jan. $\frac{1}{100}$ mg, sonst wie 148 7. April wie 148	5. Aug. keine Erscheinungen, zu weiteren Versuchen benutzt
151	300	wie 150	wie 150
152	280	16. Okt. 1 mg 5-täg. sc. L.A.H. 16. Jan. $\frac{1}{600}$ mg 1-täg. L.S.B. 7. April 1 mg 1-täg. R.S.B.	5. Aug. wie 150
153	325	wie 152	28. Mai käsiger Herd rechte Schenkel- beuge, sonst nichts Tuberkulöses. In Herden für Meerschweinchen virulente Bacillen
154	300	11. Okt. 1 mg 5-täg. sc. L.A.H. 16. Jan. $\frac{1}{100}$ mg 1-täg. sc. L.S.B. 7. April 1 mg 1-täg. R.S.B.	5. Aug. wie 150
155	330	wie 154	30. Juli tot, frei von Tuberkulose
140	250	12. Okt. 1 mg 1-täg. sc. L.A.H.	29. März tot, allgemeine Tuberkulose
222	360	7. April 1 mg 1-täg. sc. R.S.B.	16. Mai getötet, R.S.B.-Drüsen, Portal-, Mesenterial- u. Bronchial- drüsen geschwollen, Milz, Lunge und Leber Knötchen
323	350	7. April wie 222	wie 222

Erklärung der Abkürzungen: sc. = subkutan; iv. = intravenös usw.; L.A.H. = linke Achselhöhle; R.S.B. = rechte Schenkelbeuge; vir. = virulent.

1) Zu diesen und den folgenden Versuchen wurde, soweit nichts anderes bemerkt ist, ein Stamm des Typus bovinus benutzt.

oder weniger deutliche Zeichen von Tuberkulose dar. Erheblich besser und viel gleichmäßiger wurden die Resultate, wenn wir der kleinen Dosis abgeschwächter Bacillen eine große Dosis auf dieselbe Weise, aber längere Zeit mit 25-proz. Harnstoff geschüttelter und infolgedessen abgetöteter Bacillen vorausschickten. Nur ein Tier (153) erwies sich von den auf diese Weise vorbehandelten Tieren nicht als immun gegen 1 mg 1-tägiger Bacillen, also gegen eine sonst stets sicher tödliche Dose.

Die Immunisierung von Meerschweinchen gegen hochvirulente Tuberkelbacillenstämme ist eine äußerst schwierige. Wir müssen es schon als eine große Leistung unserer Methode auffassen, wenn es uns bei einigen Tieren gelungen ist, eine echte Immunität zu erzielen. E. Levy berichtete schon 1903 von positiven Tuberkuloseschutzimpfungen bei Meerschweinchen. Wir haben nun eine sehr große Anzahl von Immunisierungsversuchen angestellt, indem wir die Meerschweinchen auf die verschiedensten Arten vorbehandelten. Von diesen Versuchen ist es natürlich nur möglich, einen Teil, den wir für besonders charakteristisch halten, hier anzuführen.

Tabelle II.

Abtötung und Abschwächung der zur Schutzimpfung verwandten Bacillen durch 50-proz. Traubenzucker.

M	Ge- wicht	Dosis	Resultat
5	610	17. April 1 mg 3-täg. R. A. H. 10. Juni 2 mg 3-täg. L. A. H. 25. Juli 4 mg 3-täg. R. S. B. 9. Sept. 7 mg 3-täg. L. S. B. 3. Nov. $\frac{1}{100000}$ mg virulent. sc. R. A. H.	17. April †, allgemeine Tuberkulose, in den Lungen Kavernen
6	530	wie 5	12. April †, wie 5
27	360	3. Nov. $\frac{1}{100000}$ mg virulent sc. R. A. H.	18. Febr. †, allgemeine Tuberkulose
28	245	3. Nov. wie Tier 27	18. Febr. †, allgemeine Tuberkulose

Tabelle III.

Abtötung und Abschwächung der zur Schutzimpfung verwandten Bacillen durch 25-proz. Galaktose.

M	Ge- wicht	Dosis	Resultat
33	240	9. Dez. $\frac{1}{2}$ mg 4-täg. sc. L. S. B. 13. März $\frac{1}{1000}$ mg 1-täg. sc. L. A. H. 26. Mai $\frac{1}{100}$ mg 1-täg. sc. R. S. B. 3. Juli $\frac{1}{10000}$ mg virulent. sc. R. A. H.	17. Aug. †, keine tuberkulösen Ver- änderungen
36	235	9. Dez. $\frac{1}{4}$ mg, sonst wie 33	20. März †, R. A. H. geringe Ver- dickung mit kleinen käsigen Her- den. Alle Injektionsstellen reak- tionslos. Bronchial-, Mesenterial- und Portaldrüsen geschwollen und verkäst. In den Lungen ausge- dehnte Kavernen. Milz u. Leber mit großen tuberkulösen Herden durchsetzt
87	325	3. Juli $\frac{1}{10000}$ mg virulent. sc. R. A. H.	17. Aug. R. A. H. Abszeß u. Drüsen 27. Dez. †, allgemeine Tuberkulose
88	385	3. Juli wie 87	17. Aug. R. A. H. Abszeß u. Drüsen 19. Nov. †, allgemeine Tuberkulose, in den Lungen Kavernen

Die beiden Tiere 5 und 6 sind mit großen Dosen abgetöteter Bacillen vorbehandelt. Sie wiesen eine ziemlich große Resistenz gegenüber virulenten Bacillen auf und überleben die Kontrollen um fast 2 Monate. Relativ günstig sind auch die Resultate, die wir erzielten, wenn wir auf eine größere Dosis abgetöteter Bacillen noch mehrere kleine Dosen abgeschwächter Bacillen den Tieren injizierten. Wenn wir auch auf diese Weise keine vollständige Immunisierung erreichten, so war doch immerhin die Verlängerung des Lebens bei manchen Tieren gegenüber den Kontrollen besonders auffällig.

Tier 36 hat demnach die Kontrolle 87 um 3 Monate, die Kontrolle 88 sogar um 4 Monate überlebt. Tier 33, welches 6 Wochen nach der Infektion leider interkurrent starb, zeigte damals noch keinerlei tuberkulöse Veränderungen, während die beiden Kontrollen 87 und 88 schon einen tuberkulösen Abszeß an der Injektionsstelle und Schwellung der regionären Lymphdrüsen erkennen ließen.

Tabelle IV.

Abtötung und Abschwächung der zur Schutzimpfung verwandten Bacillen durch 80-proz. Glycerin.

M	Ge- wicht	Dosis	Resultat
323	540	13. März 05 1 mg 2-täg. L. S. B. 17. Mai $\frac{1}{20}$ mg 1-täg. R. A. H. 20. Juli $\frac{1}{10000}$ mg. vir. L. A. H.	22. Febr. 06 an der letzten Injektions- stelle eine Cyste, sonst Sektions- befund negativ
324	680	13. März wie 323 17. Mai wie 323 20. Juli $\frac{1}{50000}$ mg vir. L. A. H.	5. Jan. 06 allgemeine Tuberkulose, Lunge Kavernen
325	560	wie 324	11. Jan. 06 wie 324
326	280	10. April 1 mg 2-täg. R. A. H. 20. Juli $\frac{1}{10000}$ mg vir. L. A. H.	19. Dez. allgemeine Tuberkulose, Lunge Kavernen
327	245	10. April wie 326 20. Juli $\frac{1}{50000}$ mg vir. L. A. H.	18. Dez. wie 326
328	360	20. Juli $\frac{1}{10000}$ mg vir. L. A. H.	20. Nov. wie 326
329	330	20. Juli $\frac{1}{50000}$ mg vir. L. A. H.	17. Nov. allgemeine Tuberkulose
330	370	20. Juli wie 329	20. Okt. wie 326

Aus Tabelle IV ist Meerschweinchen 323 als völlig immun zu betrachten. Das Tier ging 7 Monate nach der Infektion mit virulenten

Tabelle V.

Abschwächung der zur Schutzimpfung verwandten Bacillen durch 80-proz. Glycerin.

M	Ge- wicht	Dosis	Resultat
349	620	17. Mai 05 $\frac{1}{30}$ mg 1-täg. R. A. H. 20. Juli $\frac{1}{10000}$ mg vir. L. A. H.	27. Nov. allgemeine Tuberkulose
350	255	4. April 05 1 mg 1-täg. L. A. H. 20. Juli wie 349 R. A. H.	28. Dez. allgemeine Tuberkulose
351	692	4. April 05 1 mg 1-täg. L. A. H. 20. Juli $\frac{1}{50000}$ mg vir. R. A. H.	30. Nov. allgemeine Tuberkulose, große Kavernen in der Lunge

Kontrollen siehe 328—330 (Tabelle IV).

Bacillen interkurrent zugrunde und zeigte sich bei der Autopsie frei von Tuberkulose; an der Injektionsstelle war nur eine mit wasserklarem Inhalt gefüllte Cyste zurückgeblieben. Aber auch unsere anderen Tiere, sowohl die mit toten und abgeschwächten als auch die mit toten Bacillen allein behandelten, zeigten eine beträchtliche Verlängerung des Lebens. Sie blieben 4—6 Wochen länger am Leben als die zuletzt gestorbenen Kontrollen (328 u. 329).

Nur Tier 350 blieb 5 Wochen länger leben als die Kontrollen. Die anderen starben fast zu gleicher Zeit.

Die Immunisierung mit abgeschwächten Bacillen ohne vorherige Behandlung mit abgetöteten gibt viel schlechtere Resultate, vor allen Dingen ist man viel mehr Zufälligkeiten ausgesetzt und hat mit Tierverlusten zu rechnen. Wie wir bei unseren früheren Versuchen mit abgeschwächten Tuberkelbacillen gesehen haben¹⁾, sind dieselben imstande, die regionären Lymphdrüsen zu passieren, ohne fühlbare Veränderungen zu machen. Trotzdem setzen sie im Organismus tuberkulöse Veränderungen. Daraus läßt sich unter Umständen der geringe Widerstand gegen die nachherige Infektion mit vollvirulenten Bacillen erklären. Da die Eingangspforte und die zu ihr gehörenden Lymphdrüsen ohne fühlbare Veränderung bleiben können, so ist es möglich, daß derartige Tiere noch Monate nach der Infektion äußerlich gesund erscheinen, während sie bereits latent tuberkulös erkrankt sind.

Auch die Resultate, die wir mit durch 25-proz. Galaktoselösung abgeschwächten Bacillen erhielten, sind nicht günstiger.

Tabelle VI.

Abschwächung der zur Immunisierung verwandten Bacillen durch 25-proz. Galaktose.

M	Ge- wicht	Dosis	Resultat
61	345	26. Mai $\frac{1}{100}$ mg 1-täg. sc. L. A. H. 3. Juli $\frac{1}{10000}$ mg vir. R. A. H.	17. Okt. †, allgemeine Tuberkulose, Kavernen in den Lungen
62	320	26. Mai $\frac{1}{10}$ mg, sonst wie 61 Kontrollen siehe Tier 87, 88	28. Aug. †, Bronchial-, Mesenterial- u. Portaldrüsen, R. A. H., Milz Knötchen
74	245	9. Juni $\frac{1}{5}$ mg 1-täg. sc. L. A. H. 26. Juli $\frac{1}{50000}$ mg R. A. H.	26. Sept. getötet, allgemeine Tuberkulose
75	205	9. Juni $\frac{1}{10}$ 1-täg. sc. L. A. H. 26. Juli $\frac{1}{50000}$ mg R. A. H.	13. Sept. † aufgefunden, R. A. H. Einstich eitrige Entzündung, sonst keine tuberkulösen Veränderungen. Todesursache: Verblutung
94	235	26. Juli $\frac{1}{50000}$ mg vir. sc. R. A. H.	29. Aug. Abszesse in L. A. H. und R. S. B.-Drüsen
93	370	26. Juli $\frac{1}{50000}$ mg R. A. H.	27. Nov. †, allgemeine Tuberkulose
			13. Sept. getötet, R. A. H. großes, teils vercaseinisiertes, R. S. B. - Abszesse in den Lungen, Bronchien, Bronchial-, Mesenterialdrüsen ge-

1) Le-
suchungen

Die Tiere 61, 62, 74 unterscheiden sich nicht von den Kontrollen. Sehr günstig ist nur das Tier 75, das einer inneren Verblutung 6 Wochen nach der Infektion erlag. Es zeigte nur einen erbsengroßen Knoten an der Injektionsstelle, während die am selben Tage getötete Kontrolle 93 schon ausgedehnte tuberkulöse Veränderungen aufwies. Auch die Kontrolle 94, die weiter am Leben gelassen wurde, ließ schon einen Abszeß an der Injektionsstelle, Schwellung der regionären Lymphdrüsen und Drüsen in der rechten Schenkelbeuge fühlen.

Unsere Versuche am Meerschweinchen lehren, daß es mit der hier angegebenen Methode gelingt, selbst das so außerordentlich empfindliche Meerschweinchen gegen Tuberkulose zu immunisieren und seine Widerstandskraft zu erhöhen. Allerdings waren wir nur in einigen wenigen Fällen imstande, bei unseren jetzigen und früheren zum Teil bereits veröffentlichten Versuchen Meerschweinchen gegen nachfolgende Infektion mit der 10-fachen letalen Dose von vollvirulenten Bakterien zu schützen.

Neben diesen Immunisierungsexperimenten haben wir ferner versucht, Meerschweinchen, die wir tuberkulös gemacht hatten, mit durch Galaktoselösungen abgetöteten und im Vakuum getrockneten Tuberkelbacillen nachzubehandeln. Dieses Präparat wird jetzt von der chemischen Fabrik auf Aktien vorm. E. Schering unter dem Namen Tebean in den Handel gebracht. Wir haben diese Versuche hauptsächlich angestellt, um Gewißheit darüber zu erlangen, ob das Präparat eine schädigende Wirkung auf Tiere ausübt, die bereits deutliche Zeichen von Tuberkulose haben. Erst dann haben wir mit unseren Heilversuchen beim Menschen begonnen, über die wir später berichten werden.

Versuch I.

Tier 57, 250 g. 4. Mai $\frac{1}{2}$ mg virulenter Tuberkelbacillen Typus humanus sc. R.A.H. 9. Mai Drüse R.A.H., 265 g. 16. Mai $\frac{1}{1000}$ mg mit Galaktose abgetöteter menschlicher Bacillen (= Tebean), subkutan. 2. Juni, 275 g, $\frac{1}{100}$ mg Tebean. 13. Juni $\frac{1}{10}$ mg Tebean. 16. Juni, 290 g, $\frac{1}{5}$ mg Tebean. 21. Juni $\frac{1}{2}$ mg Tebean. 27. Juni. 315 g, 1 mg Tebean. 4. Juli, 350 g, 2 mg Tebean. 12. Juli, 345 g, 3 mg Tebean. 19. Juli an der letzten Injektionsstelle Abszeß. 25. Juli Abszeß ausgeheilt. 7. Sept. Lähmung der hinteren Extremitäten. 19. Sept. † aufgefunden. Allgemeine Tuberkulose.

Tier 59, 257 g. 4. Mai $\frac{1}{2}$ mg virulenter Tuberkelbacillen Typ. humanus. 1. Juli † aufgefunden, allgemeine Tuberkulose.

Tier 58, wie 57, stirbt während der Behandlung am 12. Juni. Sektion: Allgemeine Tuberkulose, keine Veränderungen an den sekundären Injektionsstellen.

Versuch II.

Tier 71. 220 g. 3. Juni $\frac{1}{100}$ mg virulenter Tuberkelbacillen Typ. humanus sc. L.A.H. 9. Juni, 230 g, Verdickungen L.A.H. $\frac{1}{100}$ mg Tebean subkutan. 13. Juni, 230 g, $\frac{1}{50}$ mg Tebean. 16. Juni, 240 g, $\frac{1}{25}$ mg Tebean. 21. Juni, 275 g, $\frac{1}{10}$ mg Tebean. 27. Juni $\frac{1}{5}$ mg Tebean. 4. Juli, 290 g, $\frac{1}{2}$ mg Tebean. 12. Juli, 295 g, 1 mg Tebean. 7. Okt. †, allgemeine Tuberkulose.

Tier 72, 230 g, behandelt wie Tier 71. 31. Dez. Lähmung der hinteren Extremitäten. 9. Jan. † aufgefunden. Sektion: Prof. M. B. Schmidt (s. unten).

Tier 73, 290 g. 3. Juni $\frac{1}{100}$ mg virulenter Tuberkelbacillen Typ. humanus. 13. Nov. †, allgemeine Tuberkulose.

Versuch III.

Tier 186, 340 g. 17. Jan. $\frac{1}{600}$ mg virulenter Tuberkelbacillen Typ. humanus sc. R.A.H. 5. Febr. Strang R.A.H. 7. Febr. $\frac{1}{8}$ mg Tebean subkutan. 10. Febr. $\frac{1}{4}$ mg Tebran. 14. Febr. $\frac{1}{2}$ mg Tebran. 17. Febr. 1 mg Tebean. 21. Febr. 2 mg Tebran. 9. März 4 mg Tebean. 18. Juni †, allgemeine Tuberkulose.

Tier 187, 280 g. 17. Jan. $\frac{1}{1000}$ mg virulenter Tuberkelbacillen Typ. humanus sc. R.A.H., sonst behandelt wie 186. 20. Okt. †, allgemeine Tuberkulose, Kavernen in den Lungen.

Tier 188, 250 g. 17. Jan. $\frac{1}{10000}$ mg virulenter Tuberkelbacillen Typ. humanus. 16. Juni †, allgemeine Tuberkulose.

Wie aus diesen Versuchen hervorgeht, ertrugen die kranken Tierchen große Mengen des Tebeans anstandslos. So Tier 186 und 187 bis 4 mg noch 7 Wochen nach der Infektion. Teilweise zeigten die Tiere eine nicht unerhebliche Verlängerung ihrer Lebensdauer; so lebte Tier 187 fast 4 Monate länger als die Kontrolle 188, trotzdem es eine 10-fach höhere Dosis virulenter Bacillen erhalten hatte. Tier 57 und 72 überleben die Kontrolle 11 und 8 Wochen. Bei keinem der Tiere wurde ein schädigender Einfluß der Injektionen beobachtet. Bei den ganz großen Dosen traten lokal Abszesse auf, die wieder ausheilten. Bei zwei der nachbehandelten Tiere, die sich durch lange Lebensdauer auszeichneten (Tier 57, 72), trat kurz vor dem Tode Lähmung der hinteren Extremitäten auf, eine Erscheinung, die wir sonst niemals beobachten konnten.

Herr Prof. M. B. Schmidt hatte die große Liebesswürdigkeit, eines dieser Tiere zu sezieren. Wir sind ihm hierfür zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

Sektionsprotokoll.

Milz: Dicht durchsetzt von jungen Tuberkeln, ohne Verkäusung und ohne bindegewebige Veränderung im zwischenliegenden Gewebe.

Lunge: Verstreute Miliartuberkel, meist ohne Verkäusung.

Leber: Große käsige, zum Teil verkreidete Herde, mit dicker bindegewebiger Kapsel in reichlicher Zahl. An anderen Stellen breite Bindegewebszüge, in der Regel wohl verbreiterte Glissonsche Kapsel mit nicht verkästen Miliartuberkeln im Innern.

Im Mediastinum anticum ein großes derbes Lymphdrüsenpaket, in dem das Lymphdrüsen Gewebe bis auf geringe Reste zugrunde gegangen ist; der Knoten besteht größtenteils aus derbem Bindegewebe, in dem Gruppen verkäster und nicht verkäster Tuberkel liegen.

Niere: Unverändert.

Wirbelkörper zeigen auch bei mikroskopischer Untersuchung keinerlei Veränderungen.

Wir halten eine Giftwirkung durch die Injektionen für ausgeschlossen, da die Lähmung in einem Falle (57) 2 Monate nach der letzten Injektion auftrat; im zweiten (72) 5 Monate nachher. Wir neigen vielmehr der Meinung zu, daß es sich hier um Erscheinungen handelt, die auftreten bei sehr langsam verlaufenden Tuberkulosen, während für gewöhnlich der Tod der Tiere eintritt, ehe es zu diesen Veränderungen kommt; hierher gehört nach unserer Ansicht noch eine andere Erscheinung, die wir häufiger bei unseren Tieren beobachtet haben, nämlich eine echte Kavernenbildung in den Lungen. Diese Kavernenbildung ist von verschiedenen Forschern, die sich mit der Immunisierung von Meer-

Tabelle VII.

M	Ge- wicht	Dosis	Resultat
31	265	15. Nov. $\frac{1}{80000}$ mg Tuberkelbacillen virulent R.A.H.	19. April †, allgemeine Tuberkulose, in den Lungen Kavernen
32	365	5. Dez. $\frac{1}{1000}$ mg Tuberkelbacillen virulent R.A.H.	26. März †, wie 31
88	385	3. Juli $\frac{1}{10000}$ mg Tuberkelbacillen virulent R.A.H.	19. Nov. †, wie 31
225	630	5. Aug. $\frac{1}{10000}$ mg Tuberkelbacillen virulent R.A.H.	23. Nov. †, wie 31
328	360	20. Juli $\frac{1}{10000}$ mg Tuberkelbacillen virulent L.A.H.	20. Nov. †, wie 31
330	370	20. Juli $\frac{1}{50000}$ mg, wie 328	20. Okt. †, wie 31

schweinchen gegen Tuberkulose beschäftigt haben, erwähnt und zum Teil als Folge der Vorbehandlung z. B. mit Kaltblütertuberkelbacillen aufgefaßt worden. Wir konnten die Kavernenbildung auch in einer Reihe von Fällen auftreten sehen, die als Kontrollen direkt mit virulenten Bacillen gespritzt wurden.

Wir glauben daher, daß hier nicht ein Effekt der Vorbehandlung vorliegt. Die Kavernenbildung dürfte vielmehr im Zusammenhang mit dem langsamen Verlauf der Tuberkulose stehen. Dieser kann seinen Grund haben in der erhöhten Resistenz von vorbehandelten Tieren oder aber auch, wie bei den vorher erwähnten Tieren, wenn sich die Infektionsdosis der einfach tödlichen nähert.

Zum Schluß wollen wir noch über Kaninchenimmunisierungsversuche berichten. Dieselben wurden mit einem für diese Tiere hochvirulenten Stamm des Typus bovinus ausgeführt. Sie sind günstig ausgefallen. Man kann uns allerdings entgegenhalten, daß das Kaninchen sich häufig nicht besonders zu Tuberkuloseimmunisierungsexperimenten eignet. Wenn man jedoch unsere Befunde überblickt, so muß man dieselben als bemerkenswerte bezeichnen. Wir haben das Kaninchen gewählt, um brauchbare Anhaltspunkte für unsere geplanten Rinderimmunisierungen uns zu schaffen.

Tabelle VIII.

Abschwächung der zur Immunisierung verwandten Bacillen durch 25-proz. Harnstoff.

Kan.	Ge- wicht	Dosis	virulente Dosis	Sektion
9	910	19. April 40 mg 3-täg. iv.	6. Juli $\frac{1}{100}$ mg iv.	2. Sept. †, Lunge, Leber, Milz Tbk.
13	800	19. „ 80 mg 5-täg. ip.	do.	13. Sept. getötet, keine Veränderungen
17	840	19. „ 60 mg $6\frac{1}{2}$ -täg. iv.	do.	1. Nov. getötet, wie 13
18	850	19. „ 40 mg 7-täg. iv.	do.	8. Okt. †, Lunge Tbk., sonst negativ
22	1080	20. „ 40 mg 8-täg. iv.	do.	1. Nov. getötet, wie 18
25	950	20. „ 60 mg 8-täg. ip.	do.	2. Sept. †, Lunge, Leber, Milz Tbk.
28	1160	23. „ 40 mg $7\frac{1}{2}$ -täg. iv.	do.	19. Sept. an Räude gestorben. Organe negativ
29	1160	23. „ 60 mg $7\frac{1}{2}$ -täg. iv.	do.	wie 28

Unsere Versuche, mit abgeschwächten Bacillen Kaninchen gegen Tuberkulose zu schutzimpfen, sind befriedigend, wenn man zur Vorbehandlung den Tieren intravenös eine Dosis von abgeschwächten Bacillen injiziert, die nahe der Abtötungsgrenze sind (Kan. 13, 17, 28, 29). Mit 3-tägigen abgeschwächten Bacillen ist es nicht gelungen, Tiere widerstandsfähig zu machen.

Es gelang uns ausnahmslos, Kaninchen durch intravenöse Vorbehandlung mit durch 25-proz. Harnstofflösung abgetöteten und im Vakuum getrockneten Tuberkelbacillen einen vollständigen Schutz gegen die nachherige Infektion zu verleihen. Kaninchen 1, 2, 26, 27 erhielten 20–50 mg abgetötete Tuberkelbacillen intravenös und 10–12 Wochen nachher eine Dosis virulenter Bacillen, der die Kontrolltiere in 7 Wochen

Tabelle IX.

Abtötung der zur Immunisierung verwandten Bacillen durch
25-proz. Harnstoff.

Kan.	Ge- wicht	Immunisierungsdosis	virulente Dosis	Sektion
1	1470	9. April 40 mg 8 $\frac{1}{2}$ -täg. iv.	6. Juli $\frac{1}{100}$ mg iv.	28. Okt. keine tuber- kulösen Verände- rungen
2	1030	9. " 20 mg 8 $\frac{1}{2}$ -täg. iv.	do.	do.
26	1000	20. " 50 mg 8 $\frac{1}{2}$ -täg. iv.	do.	do.
27	1100	20. " 50 mg 8 $\frac{1}{2}$ -täg. iv.	do.	do.
61	1320		do.	6. Aug. †, Lunge u. Leber miliare Tbk.
62	1120		do.	12. Juli †, Coccidi- diosis
43	1620		do.	27. Aug. †. Abge- magerter Kadaver. Lunge u. Pericard miliare Tbk. Ex- sudat in der Brust- höhle. Leber mili- are u. größere ver- käste Tbk.
32	1520		23. April $\frac{1}{100}$ mg iv.	18. Juni †, allgem. hochgradige Tbk., vor allem der Lunge

erlagen. 2 Monate nach dem Tode des Kontrolltieres, das am längsten am Leben geblieben war, wurden die präventiv geimpften Tiere getötet und erwiesen sich als frei von Tuberkulose.

Nachtrag bei der Korrektur.

In der Diskussion zu dem Thema „Neuere Immunisierungsverfahren“ auf dem XIV. internationalen Kongreß für Hygiene und Demographie zu Berlin 1907, dessen offizieller Bericht eben erschienen ist, erhebt Loeffler für die Verwendung des Zuckers zur Bereitung von immunisierenden Präparaten Prioritätsanspruch. „Es liegt mir daran,“ so gab er zu Protokoll, „zu konstatieren, daß ich den Zucker zur Herstellung von Immunisierungsmaterialien, wenn auch in etwas anderer Form wie Levy, zuerst empfohlen und angewendet habe.“ Demgegenüber ist zu betonen, daß Loeffler sein Verfahren der Imprägnierung von Zuckerstücken mit Bakteriensuspensionen in der Gedenkschrift für v. Leuthold im Jahre 1906 veröffentlicht hat. Eine Mitteilung über unsere Verwendung von Zuckerarten geschah durch E. Levy bereits auf dem internationalen Tuberkulosekongreß zu Paris 1905 (vergl. die Originalarbeit Med. Klinik. 1905. No. 42 und den offiziellen Bericht des genannten Kongresses).

Nachdruck verboten.

Ueber experimentelle Hauttuberkulose bei Affen.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institute in Wien
(Vorstand: Prof. R. Paltauf).]

Von Prof. Dr. **R. Kraus** und Privatdozent Dr. **S. Grosz**.

Mit 4 Tafeln.

Versuche, Hauttuberkulose experimentell zu erzeugen, sind nur spärlich in der Literatur vertreten.

Sieht man von den Mitteilungen Waldenburgs, von Orth und Baumgarten ab, die bloß sekundäre Tuberkulose der Haut nach subkutaner Infektion mitteilen, so erübrigen bloß die Versuche von Mayer, Nagelschmidt und Cornet.

Mayer (Münch. med. Wochenschr. 1903) beschreibt eine Hauttuberkulose bei Meerschweinchen, die nach Einreibung tuberkulösen Sputums entstanden ist, ohne über Aussehen und Verlauf dieser Affektion nähere Angaben zu bringen. Auch Cornet (Tuberkulose in Nothnagels Handbuch) erwähnt nur kurz lupusähnliche Veränderungen bei Tieren nach kutaner Einreibung von Tuberkelbacillen. Nur Nagelschmidt (Arch. f. Dermatologie. Bd. LXIII) beschreibt eingehender eine durch Einreiben von Tuberkelbacillen in die Haut von Meerschweinchen nach vorgängiger Skarifikation entstandene lupusähnliche Affektion. Nagelschmidt schildert kurz den hierbei erhobenen histologischen Befund. „Es entwickelte sich im Verlaufe von 3—7 Wochen an den geimpften Stellen ein Granulationsgewebe, in welchem teils einfache, teils konfluente Tuberkel in verschiedenen Hautschichten eingelagert waren; dieselben fanden sich sowohl in den obersten Schichten dicht unter dem Epithel, wie auch in der Cutis und im subkutanen Gewebe. In ihnen waren zahlreiche epitheloide sowie Riesenzellen nachweisbar. In der Mitte der Tuberkel fand stellenweise eine Einschmelzung resp. beginnende Verkäsung statt. Tuberkelbacillen wurden in mehreren Schnitten in ziemlich reichlicher Anzahl sowohl einzeln, als auch zu kleinen Herden vereint an den verschiedensten Stellen des Präparates gefunden.“

In Versuchen, über welche R. Kraus und O. Kren seinerzeit berichteten, wurde der Frage nähergetreten, ob durch Uebertragung tuberkulösen Materiales von der tuberkulös erkrankten Affen- und tuberkulösen Haut (Lupus) des Menschen auf die gesunde Haut des Affen Tuberkulose erzeugt werden könne.

Es wurden 6 Affen geimpft, indem ihnen mittels Skarifikation in die Haut der Augenbrauen tuberkulöses Material eingebracht wurde. Nach einer solchen Infektion ist die Hautstelle zunächst ohne jede Reaktion. Erst nach Ablauf von 15—30 Tagen konstatiert man an der Infektionsstelle eine lokalisierte Rötung und Infiltration der Haut in der Größe einer Erbse. Im Verlaufe einiger Tage breitet sich die Infiltration längs der oberen Augenbraue aus. Die erkrankte Partie ist lividot, an der Kuppe häufig mit einer Borke bedeckt, nach deren Ablösung ein flaches Geschwür mit feucht glänzendem, oft etwas blutendem Grunde zutage tritt. Die weitere Ausbreitung der Affektion kann nun auf zweierlei Weise erfolgen: Entweder die Erkrankung greift auf die umgebende gesunde Haut über und wächst per continuitatem weiter, oder sie breitet sich längs der Lymphgefäße aus.

Im ersteren Falle reihen sich binnen 2—3 Wochen an die bestehende Infiltration neue Knötchen an, die alsbald an Größe zunehmen, zu Knoten heranwachsen. Auch diese sind lividot, anfangs ziemlich derb, werden jedoch bald braunviolett und weicher.

Nach längerem Bestande konfluieren sie. Neben diesen konfluierenden Knötchen treten in der Nachbarschaft scharf begrenzte Knötchen in anscheinend gesunder Haut auf, die nicht zerfallen. Ihr Verlauf ist der nämliche, nur können sich manche von ihnen wieder vollständig resorbieren. Gleichzeitig kommt es auch zur Anschwellung der Parotis und der submaxillaren Lymphdrüsen.

Im zweiten Falle, wo die Ausbreitung auf dem Wege der Lymphbahn fortschreitet, findet man vom Hauptherd subkutan mächtige, derbe Stränge nach abwärts ziehen, über denen die Haut normal erscheint. Zur selben Zeit sind auch die regionären Lymphdrüsen und die Parotis geschwollen. Im weiteren Verlaufe entwickeln sich über diesen derben Strängen, mit ihnen im Zusammenhange, subkutan derbe, knotige Infiltrate, die bei ihrem Größerwerden — sie können Haselnußgröße erreichen — die Haut vorwölben und auf sie übergreifen. Schließlich erweicht das ganze Infiltrat und bricht spontan auf. Es entleert sich rahmiger Eiter.

Bei einem Vergleiche dieser experimentell erzeugten Formen von Hauttuberkulose mit denen beim Menschen zur Beobachtung gelangenden ergibt sich am ehesten eine Analogie zum Lupus vulgaris (tumidus, exulcerans) und zur Lymphangitis tuberculosa.

Einzelne der Hautknoten, die dem Lupus vulgaris nahestehen, wurden exzidiert und für histologische Zwecke verwertet. Die mikroskopische Untersuchung ergibt:

In die Cutis eingesprengt, finden sich allenthalben kleinste und größere runde Infiltrate, die einen differenten Bau haben; die einen, in den höheren Lagen der Cutis gelegenen, bestehen zum größten Teil aus polynuklearen Leukocyten. Gegen die Peripherie des Infiltrates nimmt die Zahl der polynuklearen Leukocyten ab; hier finden sich mononukleare Leukocyten und einige junge blasse Bindegewebszellen, die den epitheloiden Zellen zu entsprechen scheinen.

Die in den tieferen Lagen der Cutis liegenden Knötchen bestehen vorwiegend aus epitheloiden Zellen. Im Zentrum sieht man in einigen Knötchen eine homogene Partie, die einer Verkäsung zu entsprechen scheint. Am Rande liegen oft eine und auch mehrere Riesenzellen, die den Charakter der Langhansschen Riesenzellen aufweisen.

In allen Knötchen, sowohl in den oberflächlichen, aus polynuklearen Leukocyten bestehenden, als auch in den tieferen finden sich reichlich Tuberkelbacillen, hauptsächlich im zentralen Anteile der Knötchen.

Bei der zweiten Form, die klinisch der tuberkulösen Lymphangitis entspricht, sieht man an Hämatoxylin-Eosinpräparaten bei Lupenvergrößerung runde und längs-ovale Herde in die Cutis eingesprengt, die zentral eine diffuse, der Kernfärbung entsprechende Färbung aufweisen und eine ebenso dunkel gefärbte Randzone zeigen, während zwischen diesen zentralen und peripheren Partien eine helle, der Protoplasmafärbung entsprechende rosarote Zone sichtbar ist. Diese Herde entsprechen den erkrankten Lymphgefäßen und den auf ihnen sich entwickelnden Abszessen, was sich aus einzelnen Stellen der histologischen Präparate als sicher erweist.

Die beschriebenen Herde zeigen bei stärkerer Vergrößerung zentral deutliche Nekrose. Das Protoplasma der Zellen ist verschmolzen, zu einer homogenen Masse geworden, in der die Kerne nur als Trümmer zu erkennen sind. Nach außen schließt sich an eine hellrot gefärbte Zone, die nur wenige Kerne deutlich erkennen läßt. Je weiter nach außen, desto besser sind die Kerne erhalten. Man kann hier den fixen Bindegewebszellen entsprechende Elemente unterscheiden. Diese Zone wird von außen her von dichtstehenden mononukleären Zellen durchsetzt, die gegen die Mitte immer schütterer stehen. Riesenzellen sind nur spärlich anzutreffen.

In allen Infiltraten finden sich wieder reichlich Tuberkelbacillen.

Kurze Zeit nach dieser Mitteilung erschien eine Arbeit von Baermann und Halberstädter, die gleichfalls die experimentelle Erzeugung von Hauttuberkulose bei Affen zum Gegenstande hat (Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 7). Als Ausgangsmaterial diente ihnen die Milz eines an Tuberkulose eingegangenen Orangs. Auch sonst benutzten sie bei ihren Versuchen vorwiegend Organe tuberkulöser Tiere, nur zum geringeren Teil Reinkulturen. Bemerkt sei, daß sie auch in verschiedenen Intervallen nach der ersten kutanen Impfung zweite und dritte Inokulationen vornahmen, hierbei aber eine Beeinflussung der zweiten und dritten Impfung durch die vorgängige nicht konstatieren konnten.

Das mikroskopische Bild glich, soweit es die ulcerösen Formen betraf, mehr einer banalen Ulzeration, in deren basalem Rundzelleninfiltrate reichlich Tuberkelbacillen nachzuweisen waren. Bei den mehr lupusähnlichen Formen fand sich unter dem zum größten Teil intakten Epithel ein starkes Rundzelleninfiltrat mit spärlichen Tuberkelbacillen und ohne Bildung von charakteristischen Tuberkeln.

Auf dem IX. Kongreß der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft (Bern 1906) berichtete Lewandowsky über Versuche, Hauttuberkulose bei Meerschweinchen und Kaninchen zu erzeugen.

„Einreiben lebender Tuberkelbacillenkulturen vom Menschen in Skarifikationswunden, weniger sicher in oberflächlich gereizte Haut oder intrakutane Injektion führen bei Kaninchen und Meerschweinchen eine Hauttuberkulose herbei, die bei den ersteren ohne Allgemeinsymptome verheilt, bei den letzteren zu einer langsam fortschreitenden Allgemeintuberkulose führt. Die Hauttuberkulose tritt bei diesen Tieren in Gestalt unregelmäßiger, häufig gezackter Ulcera auf mit schmierigem Belag, unterminierten Rändern und sehr derber, ziemlich scharf umschriebener Randinfiltration.

Bei Tieren mit Hauttuberkulose gingen wiederholte Inokulationen in die Haut im allgemeinen schlechter an als die ersten Impfungen und verheilten rascher. Das war aber nicht der Fall, wenn nach Impfungen mit menschlichen Tuberkelbacillen solche von Perlsucht vorgenommen wurden.

Histologisch konnte erhoben werden: Wenige Tage nach der Impfung fanden sich die Bacillen in ungeheurer Menge und Anordnung extracellulär, von einem schmalen Leukocytenwall umgeben; nach ca. 8 Tagen lagen sie alle innerhalb der Zellen, und zwar noch immer in einer Menge und Anordnung, die geradezu an Lepre gemahnte. Nach ca. 14 Tagen war histologisch eine typische Tuberkulose zu konstatieren, aber nun konnten nur noch ganz vereinzelte Bacillen, meist intracellulär, nachgewiesen werden.“

Ueber ähnliche Versuche an Meerschweinchen und Kaninchen, bei welchen aber die Bacillenkulturen auf die intakte (rasierte oder epilierte) Haut deponiert wurden, berichten Courmont und André (Comptes rendus de la Société de biologie. 1907. juin 27 u. juillet 6). Sie erhielten hierbei uncharakteristische Hautaffekte (Indurationen, seichte Substanzverluste), die aber bei histologischer Untersuchung (speziell bei Meerschweinchen) typische Tuberkelknötchen mit Riesenzellen aufwiesen.

Wir haben die von Kraus und Kren unternommenen Versuche neuerlich aufgenommen, und zwar mit der Absicht, festzustellen, ob sich auch mit Reinkulturen von Tuberkelbacillen verschiedener Herkunft tuberkulöse Impfprodukte erzeugen lassen, weiter, ob den verschiedenen Bacillenstämmen auch verschieden geartete Impfgeschwüre entsprechen würden. Ueber das Ergebnis dieser Untersuchungen haben wir in Kürze bereits Bericht gegeben (Sitzung der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien 11. Jan. 1907 [Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 26]). Wir wollen nunmehr die Resultate ausführlicher schildern, zum Teil mit den histologischen Untersuchungsergebnissen und mit Abbildungen belegen.

Versuche mit einem für Meerschweinchen und Kaninchen pathogenen Stamm (Mensch).

1. Versuch.

18. Dez. 06. Macac. rhesus 40. Einbringung von Kulturmaterial in eine Tasche der Haut des r. Augenbrauenbogens. Außerdem an mehreren Stellen seitlich Skarifikation.

31. Dez. 06. Infiltrat.

2. Jan. 07. Infiltrat, medial am stärksten, im ganzen noch geringgradig.

5. Jan. 07. Eingegangen.

An einer umschriebenen Stelle fehlt das Epithel, von hier in die Tiefe erstreckt sich eine entzündliche Infiltration, welche nach den Seiten hin ausstrahlt. In den

oberflächlichen Partien sind die Zellgrenzen verwaschen, reichlich Detritus, nach unten hin besteht das Gewebe hauptsächlich aus Leukocyten mit spärlichen epitheloiden Zellen.

Keine Verkäsung, keine Riesenzellen.

Bei Färbung auf Tbc.-Bacillen findet man entsprechend dem beschriebenen Substanzverluste sehr zahlreiche, in Haufen angeordnete, auch intracellulär liegende Bacillen.

2. Versuch.

20. Nov. 06. Macac. 34. Skarifikation am linken Augenbrauenbogen.

28. Nov. 06. o.

29. Nov. 06. Beginnende Infiltration um die Skarifikationsstellen.

11. Dez. 06. Starke Infiltration.

18. Dez. 06. Die Infiltration hat noch zugenommen, die Umgebung frei.

2. Jan. 07. Infiltration hat bedeutend abgenommen.

In der nächsten Zeit weitere Rückbildung der lokalen entzündlichen Erscheinung bis zur völligen Restitution (10. Jan. 07).

3. Versuch.

20. Nov. 06. Macac. 27. Skarifikation mit Organen eines mit St. avirulent intra-peritoneal infizierten Meerschweinchens.

29. Nov. 06. Beginnende Infiltration um die Skarifikationsstellen.

11. Dez. 06. Beide Skarifikationsstellen stark infiziert.

18. Dez. 06. Die Infiltration hat noch weiter zugenommen.

2. Jan. 07. Entsprechend den Impfstellen je ein erbsengroßer, flacher, kreisrund begrenzter Substanzverlust, Sekretion gering. Infiltrat geringer.

5. Jan. 07. Erscheinungen weiter rückgängig, Infiltration kaum mehr wahrnehmbar, Substanzverluste kleiner.

10. Jan. 07. Völlige Ausheilung.

Versuche mit Stamm Courmont (pathogen für Meerschweinchen und Kaninchen).

1. Versuch.

16. Okt. 06. Macac. 34. Skarifikation linke Supraorbitalgegend.

23. Okt. 06. Beginnende Infiltration.

30. Okt. 06. Infiltration mäßigen Grades.

30. Nov. 06. Eingegangen.

Histologisch: Ein schon makroskopisch sichtbares Knötchen findet sich ziemlich scharf umschrieben in der Subcutis mit einem Durchmesser von 4:3 mm. Mikroskopisch erweist sich, daß dieses Knötchen einem größeren Nervenstamme anliegt, in dessen Scheide stellenweise kleinzellige Infiltration sichtbar ist.

Der Knoten ist scharf umgrenzt und läßt an der Peripherie einen diskontinuierlichen, verschieden dichten Lymphocytenwall erkennen. Manche der Zellen sind in Zerfall begriffen, ihre Kerne in feine Körnchen aufgelöst. Gegen das Zentrum wird der Knoten zellärmer und weist neben Bindegewebsbündeln spärliche zum Teil verschälerte und atrophische Muskelfasern auf, die den Knoten der Länge nach durchziehen.

Auffallend sind in den zentralen Partien Zellen, welche in zerstreuter Anordnung sich finden und durch einen großen, meist gelappten chromatinarmen Kern ausgezeichnet sind. Durch den spindelförmigen Protoplasmaleib haben sie mit Fibroblasten eine weitgehende Ähnlichkeit. Gefäße sind im Knoten nur spärlich vorhanden.

Bei Bacillenfärbung lassen sich Tuberkelbacillen reichlich nachweisen, sie liegen hauptsächlich in den peripheren Anteilen des Knotens, meist extracellulär, vereinzelt und in Gruppen. Nur stellenweise in deutlich intracellulärer Lagerung.

2. Versuch.

5. Jan. 07. Macac. 21. Skarifikation l. Supraorbitalgegend mit Stamm Courmont.

12. Jan. 07. Geringe Infiltration.

14. Jan. 07. Infiltration in Zunahme.

19. Jan. 07. Mäßig starke Infiltration.

In der Folgezeit die entzündlichen Erscheinungen rückgängig, bis zur völligen Ausheilung.

3. Versuch.

20. Nov. 06. Macac. 2 wird links mit Stamm Courmont, rechts mit Organen eines mit Stamm Courmont am 16. Okt. intraperitoneal injizierten Meerschweinchens skarifiziert.

- | rechts | links. |
|---|--|
| 28. Nov. 06. 0. | 28. Nov. 06. 0. |
| 11. Dez. 06. Starke Infiltration. | |
| 18. Dez. 06. Infiltrat, blaurote, über das obere Augenlid reichende Verfärbung. | 18. Dez. 06 wie rechts, Sekretion stärker. |
| 22. Dez. 06. Verfärbung, Infiltration beiderseits rückgängig, die prall gespannte und infiltriert gewesene Haut faltig. | |
| 2. Jan. 07. Infiltration viel geringer, Haut faltig, noch lividrot verfärbt. | |
| 5. Jan. 07. Erscheinungen völlig rückgebildet, Haut an den Impfstellen narbig, strahlig. | |

Versuche mit Stamm Blasentuberkulose (Mensch).

1. Versuch.

18. Dez. 06. Macac. 47, skarifiziert an beiden Augenbrauenbogen mit Stamm Blasentuberkulose.

31. Dez. 06. Infiltrat, Rötung.

2. Jan. 07. Rechts eine überaus derbe Infiltration. Links unter der mechanisch entfernten Borke Zerfall. Bei Druck entleert sich aus den mit Borken bedeckten Skarifikationsstellen serös gelblich-weißer Eiter.

10. Jan. 07. Submentaldrüsen sehr stark geschwellt.

15. Jan. 07. Links ein tiefgreifender Substanzverlust, unregelmäßig zackig, eitrig belegt.

Rechts entsprechend den Skarifikationsstellen ein spaltförmiges Geschwür.

20. Jan. 07. Status idem.

+ Tbc. der Parotis, Submaxillardrüsen, Knötchen in der Lunge. Disseminierte Tuberkulose der Leber und Milz.

Histologisch: Ausgedehnter Substanzverlust, in die Cutis eingesprengt zahlreiche circumscribte Knoten und auch diffus ausstrahlende Infiltrationen, stellenweise Verkäsung zeigend, stellenweise aus zerfallenem Zellmaterial bestehend. Die Knoten bestehen zum Teil aus polynukleären Leukocyten.

Riesenzellen ganz vereinzelt, Epitheloidzellen-Färbung auf Tuberkelbacillen ergibt zahlreiche, jedoch meist isolierte, nicht in Haufen angeordnete Bacillen.

(Hierzu Tafel I. Moulage vom 4. Jan. 07.)

2. Versuch.

21. März 07. Macac. 21. Skarifikation rechte Supraorbitalgegend Stamm Blasentuberkulose.

8. April 07. Starke Rötung und derbe Infiltration.

11. April 07. Skarifikationsstellen klaffend, bedeutendes Oedem der rechten Supraorbitalgegend, Submaxillardrüsen geschwellt.

16. April 07. Geschwür progredient, nimmt bereits das ganze obere Augenlid ein.

30. April 07. Exitus.

Stamm Septikämie (von Loewenstein aus menschlichem Sputum gezüchtet).

1. Versuch.

30. Okt. Macac. 3 linke Supraorbitalgegend Skarifikation.

12. Nov. an den Skarifikationsstellen Rötung, klaffend, mit Eiter belegt.

18. Nov. Exitus. Keine Tbc. der Organe.

Histologisch: Eine ausgeiehnte Geschwürsfläche, die mit Zelldetritus und Fibrinmassen bedeckt ist. Im Grunde des Geschwüres findet sich eine aus einzelnen konfluierenden knötchenförmigen Infiltraten bestehende Gewebsschicht. Die einzelnen Knötchen, die auch isoliert in den tieferen Lagen der Haut sich vorfinden, zeigen eine mehr oder weniger weit fortgeschrittene zentrale Verkäsung. Riesenzellen sind nicht vorhanden. Bacillen sehr reichlich in intra- und extracellulärer Lagerung.

2. Versuch.

18. Dez. 06. Macac. 29. Stamm Septikämie rechte Supraorbitalgegend.

31. Dez. 06. Infiltration. Geringe Rötung.

10. Jan. 07. Infiltration im Rückgange.

14. Jan. 07. Völlige Ausheilung.

Histologisch: Entsprechend dem ausgeheilten Substanzverlust der Papillarkörper fehlend, Cutis verdünnt. Unterhalb der Epidermis finden sich unscharf begrenzte Zell-

züge zwischen den auseinandergedrängten Bindegewebsbündeln, in der Tiefe auch den Nervenstämmchen und größeren Gefäßen folgend. Dieselben bestehen zum Teil aus Lymphocyten, zum Teil aus hellen Zellen, die mit einem großen chromatinarmen, ovalen Kern versehen sind.

Tuberkelbacillen finden sich hier in ungeheurer Menge, liegen fast ausschließlich intracellulär und erfüllen die eben beschriebenen Zellen. (Hierzu Abbildung Tafel II, Fig. 1. Bacillenpräparat.)

3. Versuch.

16. Okt. Macac. 25. Linke Supraorbitalgegend Skarifikation.

30. Okt. An den Skarifikationsstellen leicht gerötete Infiltrate, welche oberflächlich seichte, linsengroße Substanzverluste zeigen.

13. Nov. Exitus.

Histologisch: Hier findet sich ein schon makroskopisch sichtbares, etwa erbsengroßes Infiltrat, das bis an die Epidermis heranreicht.

Mikroskopisch zeigt es in mehrfacher Hinsicht einen eigenartigen Bau. In der Peripherie umgrenzt den Knoten ein verschieden breiter Wall von Lymphocyten. Der Knoten selbst baut sich jedoch der Hauptmasse nach aus großen epitheloiden Zellen auf, die dicht nebeneinandergedrängt das Gewebe infiltrieren. Einer der Knoten zeigt unmittelbar unter dem Epithel eine durch Gewebszerfall entstandene, zum Teil noch von Zelldetritus und Kernpartikeln erfüllte Höhle. Das Epithel darüber hochgradig verdünnt.

Zur Bildung typischer gefäßloser Tuberkel ist es nicht gekommen.

Mehrkernige Zellen vom Typus der Langhansschen Zellen sind nicht auffindbar.

Der ganze Aufbau des Knotens erinnert infolge seines Reichtums an epitheloiden Zellen und die nur geringfügige Verkäsung an die sogenannten retikulierten Tuberkel mancher tuberkulöser Lymphadenitiden.

Tuberkelbacillen sind in diesen Knoten reichlich vorhanden, liegen nur zum geringen Teil extracellulär, meist erfüllen sie in dichten Haufen von büschelförmiger Anordnung die epitheloiden Zellen.

Versuche mit Stamm Hodentuberkulose (Mensch) pathogen für Meerschweinchen und Kaninchen.

1. Versuch.

18. Dez. 06. Macac. 29. Linke Supraorbitalgegend skarifiziert.

31. Dez. 06. Infiltrat.

1. Jan. 07. Skarifikationsstellen mit Borken bedeckt, vertieft, auf Druck entleert sich reichlich Eiter.

5. Jan. 07. Starres Oedem des oberen und unteren Lides. Am oberen Augenlid ein seichter, mit Eiter belegter Substanzverlust mit zackigen Rändern.

10. Jan. 07. Oedem geringer.

14. Jan. 07. Entlang dem Supraorbitalrande ein seichter Substanzverlust, mit Borken bedeckt.

21. Jan. 07. Substanzverlust entsprechend dem inneren Supraorbitalrande größer, vertieft, mißfarbig. Am unteren Augenlide eine gelblich-graue, festhaftende Borke.

Allgemeinzustand sehr schlecht.

Wird getötet.

Sektion: Tbc.

2. Versuch.

Mit dem Milzmaterial dieses Macacus (der auf der rechten Seite früher mit Stamm Septikämie skarifiziert worden war, hier völlig geheilt) wird

am 21. Jan. 07 skarifiziert Macac. 2.

28. Jan. 07. Rötung, geringe Infiltration, aus den Skarifikationsstellen quillt Eiter.

5. Febr. 07. Weiches, teigiges Infiltrat, entzündliche Erscheinungen geringgradig.

11. Febr. 07. Erscheinungen nicht progredient, Tier krank.

18. Febr. 07. Infiltration geschwunden. Geschwüre größer, vertieft, auf das obere Augenlid herabreichend. Wird getötet. Sektion: disseminierte Tbc. Lunge, Leber, Milz etc.

Histologisch: Die Haut des Augenlides zeigt einen Substanzverlust, unter welchem sich eine mit Zelldetritus und Leukocyten erfüllte Absceßhöhle findet. Die Zerfallshöhle liegt in der Mitte eines unscharf begrenzten Knotens, der gleichfalls eine entzündliche Infiltration des Coriums darstellt und bis an den Lidmuskel heranreicht. Es baut sich auf aus lymphoiden Elementen, neben welchen die auch ziemlich reichlich

vorhandenen epitheloiden Zellen schwer kenntlich sind. Die Gefäße, welche der Knoten noch enthält, sind erweitert, gegen die Zerfallshöhle zu mit hyalinen Thromben erfüllt. Außer diesem größeren Infiltrate finden sich in der Umgebung ähnliche kleinere unscharf begrenzte Knötchen, die verschieden deutlich zentral käsigen Zerfall erkennen lassen.

Auch in der Tiefe jenseits des Lidmuskels finden sich entzündliche Infiltrate längs den größeren Gefäßen und führen, was an einer Stelle besonders deutlich ist, zur Bildung typischer, im Zentrum verkäsender, in der Peripherie mit epitheloiden Zellen ausgestatteter miliarer Knötchen.

In der zugehörigen präaurikularen Lymphdrüse ist das Lymphdrüsengewebe nur streckenweise intakt, zum großen Teil wird der Lymphknoten von in beginnender Verkäsung befindlichen Herden durchsetzt, in deren Peripherie sich noch ein schmaler Saum erhaltener Epitheloidzellen nachweisen läßt.

Tuberkelbacillen sowohl in der Haut als auch in der Lymphdrüse äußerst spärlich, nach längerem Suchen in vereinzelt Exemplaren.

Versuch mit menschlichem Tuberkulosestamm (Rabinowitsch), pathogen für Meerschweinchen und Kaninchen.

5. März 07. Macac. 48. Skarifikation linke Supraorbitalgegend Stamm menschliche Tuberkulose Rabinowitsch.

12. März. Sehr geringes Infiltrat.

19. März. Geringe Infiltration, aus den Skarifikationsstellen quillt Eiter.

21. März. Die Skarifikationsstellen klaffend, gereinigt, Umgebung infiltriert.

26. März. Infiltrat und Rötung an den Impfstellen und Umgebung in Zunahme, submaxillare Drüsen infiltriert.

11. April. Die ganze linke Gesichtshälfte stark geschwellt, infiltriert. Submaxillardrüse taubeneigroß. An den vorderen und hinteren Extremitäten, und zwar an den Streckseiten der Zehenphalangen kleinste Eruptionen, im Zentrum borkig belegt, an der Peripherie ein bläulich-roter, etwas erhabener Entzündungswall (ähnlich papulonekrotischen Tuberkuliden beim Menschen).

19. April. Exitus.

Histologisch: Die Haut zeigt einen tiefgreifenden Substanzverlust, dessen Grund von einem mit krümeligen, schlecht färbbaren Massen eines in Verkäsung begriffenen Infiltrates gebildet wird. In der Wand desselben findet sich das Gewebe kleinzellig infiltriert, wobei die einzelnen Zellen in verschieden hohem Grade Karyorrhaxis erkennen lassen. In der Umgebung finden sich in der Tiefe des Coriums ähnlich beschaffene, ziemlich scharf umgrenzte knötchenartige, käsige Zerfallsherde. Auch hier jedoch finden sich nirgends Knötchen vom typischen Bau der Tuberkel. Auch die kleinsten derselben zeigen weitgediehenen Zerfall ihrer zelligen Elemente.

Die Tuberkelbacillen, die sich mäßig reichlich vorfinden, sind vorwiegend extracellulär gelagert.

Versuche mit Perlsuchtstämmen.

1. Versuch.

18. Dez. 06. Macac. 40. Skarifikation linke Supraorbitalgegend Stamm Perlsucht.

31. Dez. Infiltrat.

2. Jan. 07. Infiltrat, aus einer Tasche quillt Eiter.

5. Jan. Entsprechend der Tasche ein lochförmig in die Tiefe greifender Substanzverlust.

Das Tier geht (interkurrent) ein.

2. Versuch.

30. Okt. 06. Macac. 26, linke Supraorbitalgegend skarifiziert.

20. Nov. Entsprechend den Skarifikationsstellen sehr starke Infiltration, Haut prall gespannt, lividrot, mit Borken bedeckt, unter der Borke quillt Eiter vor. Haut der Umgebung normal.

29. Nov. Entsprechend den Impfstellen, und zwar vom Augenbrauenbogen bis hinab über das obere Augenlid erstreckt sich ein Substanzverlust, der in seinem unteren Anteile flach, wenig sezernierend ist, im oberen Anteile unter dem Supraorbitalbogen in die Tiefe geht. Hier ist die Sekretion reichlich, eitrig, hier sieht man auf dem Geschwürsgrunde einzelne grauweiße Knötchen.

Das Tier wird getötet.

Sektion: Tbc. Knoten in Milz und Leber.

Histologisch: Sehr ausgedehnter Substanzverlust. Das bloßliegende Corium entzündlich infiltriert, gegen die Oberfläche hin verkäst und mit körnigen Detritusmassen bedeckt. Die Infiltration ist eine diffuse, aus Lymphocyten und polynuklearen Leukocyten bestehende und reicht bis in die Fasern des Lidmuskels. In der Tiefe sind zwei knötchenförmige Infiltrate, die bereits makroskopisch sichtbar sind und etwa Hirsekorngröße besitzen. Dieselben sind ziemlich scharf begrenzt, über ihren zelligen Aufbau läßt sich jedoch keine genauere Angabe machen, da das Gewebe zum größten Teil in weit vorgeschrittener Verkäsung sich befindet und nur Kerntümmer umschließt. Nur stellenweise, am Rande der Knötchen, läßt sich noch eine dünne Lage besser erhaltener Epitheloidzellen erkennen. Elastische Fasern sind in den knötchenförmigen Infiltraten nicht vorhanden. Bacillen spärlich.

(Hierzu Abbildung, Tafel IV, Fig. 3. Bacillenpräparat.)

3. Versuch.

Skarifikation am l. Supraorbitalbogen mit Milzmaterial von Macac. 26.

Macac. 41.

11. Dez. 06. Geringe Infiltration.

18. Dez. Infiltrat stärker, entsprechend den Skarifikationsstellen quillt seröser, gelber Eiter.

22. Dez. Ueber dem Nasenrücken ein erbsengroßer infiltrierter Knoten, über dem rechten Augenlid ein stecknadelkopfgroßes Knötchen, schuppig, sonst wie 18. Dez.

2. Jan. 07. Ein tiefes, kraterförmiges, unregelmäßig begrenztes Geschwür, mit trockenen Borken bedeckt. Ränder stark infiltriert, gerötet. In Fortsetzung dieses Geschwüres, von demselben durch eine schmale, entzündlich infiltrierte Hautbrücke getrennt, der vorerwähnte Knoten über dem Nasenrücken, der randständig durch einen kleineren lupusähnlichen Herd begrenzt wird.

Am r. oberen Augenlid ein miliarer oberflächlicher Substanzverlust. In der Regio submentalis eine stark infiltrierte verschiebbliche Drüse. Rechtes Augenlid ödematös.

5. Jan. Ränder des Geschwüres nekrotisch, Geschwüre wenig sezernierend, Grund feuchtglänzend.

15. Jan. Einzelne frische Knötchen am r. Augenlid.

21. Jan. Substanzverlust nunmehr bis auf den Knochen reichend, ganz trocken.

24. Jan. Exitus. Sektion: Tbc. der Lunge, Leber, Milz, Netz, Submaxillardrüsen.

Histologisch: Ausgedehnter Substanzverlust, knotenförmige Infiltrate in der Cutis.

Stellenweise Verkäsung. Epitheloidzellen, Leukocyten. Keine Riesenzellen.

- Bacillen reichlich, isoliert.

(Hierzu Tafel III. Moulage. Abbildung vom 4. Jan. 07.)

4. Versuch.

5. März. 07. Macac. 45. Skarifikation linke Supraorbitalgegend Perlsucht Rabino-witsch.

12. März. Mäßige Infiltration.

14. März. Starke Infiltration. Rötung.

19. März. Starke Infiltration, Skarifikationsstellen klaffend, geringes Oedem des unteren Lides.

21. März. Oedem hat zugenommen.

26. März. Die Haut an den Skarifikationsstellen um die daselbst befindlichen Geschwüre gerötet und infiltriert, Haut der Augenlider gerötet, ödematös geschwellt, oberes Augenlid starr. Submaxillardrüsen vergrößert.

11. April. Ein von der Regio supraorbitalis bis über das obere Augenlid reichender Substanzverlust mit infiltrierten ausgeagten Rändern. Unter der Haut der linken Backe derbe Knoten.

15. April. Exitus. Tbc. der Drüsen, Leber, Milz, Lungen.

Histologisch: Ausgedehnter Substanzverlust, in der Tiefe knotenförmige Infiltrate, zum Teil Verkäsung zeigend. Die Infiltrate aus Leukocyten und epitheloiden Zellen bestehend, stellenweise nur mehr Kernreste sichtbar. Keine Riesenzellen.

Bacillen spärlich.

Versuche mit Stamm Vogeltuberkulose.

1. Versuch.

19. März 07. Macac. 34. Skarifikation an der l. Augenbrauengegend.

21. März. Befund lokal ø.

8. April. ø.

Histologisch: Unmittelbar unter dem Epithel findet sich eine unscheinbare Infiltration in Form von zarten Strängen, welche vorwiegend aus sogenannten Epitheloidzellen bestehen. In der Tiefe, unterhalb zweier Haarbälge, sind im Fettgewebe unscharf begrenzte knotige Infiltrate vorhanden, die gleichfalls vorwiegend aus epitheloiden Zellen bestehen. Der Zelleib derselben ist deutlich vakuoliert.

Tuberkelbacillen sind vorwiegend intracellulär gelagert, in sehr großer Menge vorhanden.

(Hierzu Abbildung Tafel IV, Fig. 2. Bacillenpräparat.)

Als Ergebnis dieser Untersuchungen kann zunächst festgestellt werden, daß sowohl Tuberkelbacillen menschlicher Provenienz, als auch Perlsuchtbacillen tuberkulöse Hautaffektionen bei Affen hervorzurufen imstande sind.

Nach Impfung mittels Skarifikation im Supraorbitalbereiche kommt es nach 10—14 Tagen zu entzündlichen Veränderungen, welche eine Zeitlang bestehen bleiben, teils zu Zerfall und Geschwürsbildung führen oder sich rückbilden können. Nur die Stämme der Vogeltuberkulose haben ganz geringfügige klinische Veränderungen erzeugt.

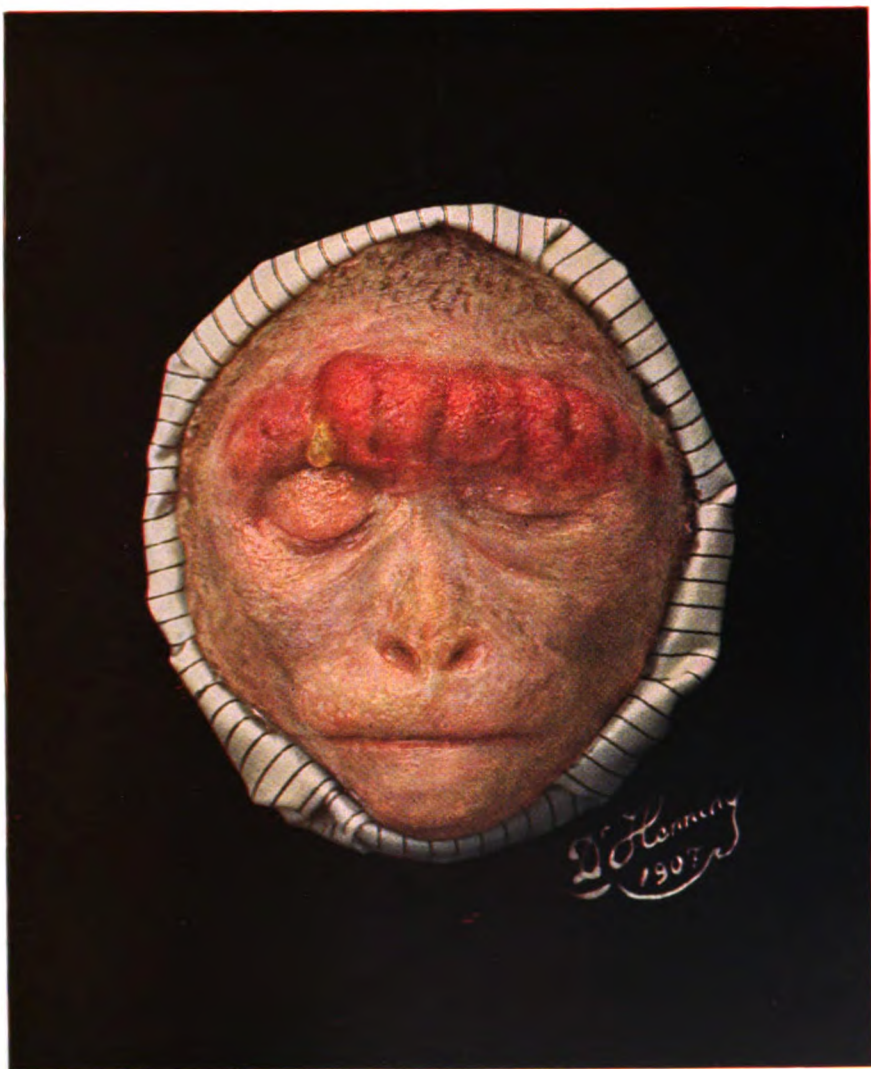
Die von Menschen herrührenden Stämme rufen häufig Affektionen hervor, die im wesentlichen auf die Skarifikationsstellen beschränkt bleiben, über diese hinaus nicht wachsen und keine Tendenz zur Einschmelzung zeigen. Die Veränderungen können nach längerem Bestande abklingen und zu völliger Ausheilung kommen.

Im Gegensatz hierzu konnte mit Stämmen tierischer Herkunft (Perlsucht) regelmäßig ein Krankheitsbild erzeugt werden, das nicht so gutartig verlief, wie die vorhergehend beschriebenen. Die Infiltration beschränkt sich nicht allein auf die Impfstelle, sondern hat die Tendenz, darüber hinaus sich auszudehnen. Nach kurzem Bestande der entzündlichen Erscheinungen kommt es zu geschwürigem Zerfall der infiltrierten Hautstellen und zu tuberkulösen Veränderungen der regionären Lymphdrüsen, der Parotis und Sublingualdrüsen. Der Ausgang dieser Impftuberkulose war regelmäßig ein letaler, bedingt durch die Propagation des Virus in die inneren Organe (Lunge, Milz, Leber). Auch mit einzelnen Stämmen, welche menschlicher Herkunft waren, wurden ähnliche Bilder erzeugt.

Die histologischen Ergebnisse sind bei den einzelnen Versuchsreihen genügend gewürdigt.

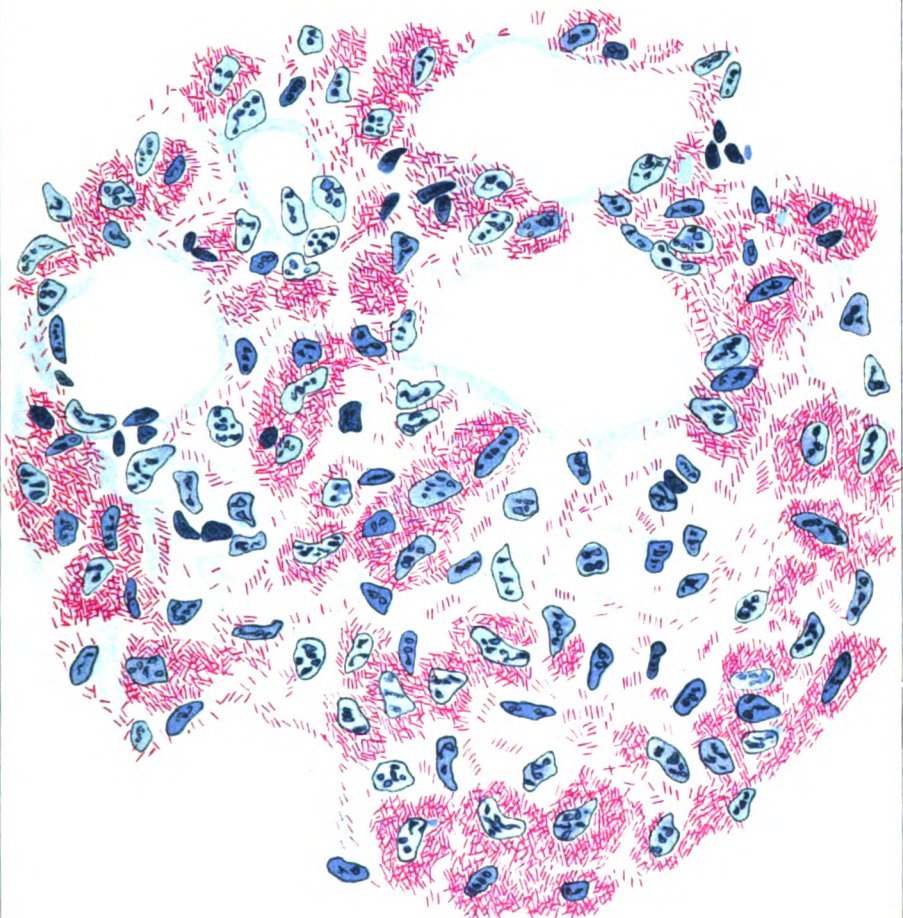
Bezüglich der Ergebnisse, welche bei der Untersuchung der Impfprodukte auf Tuberkelbacillen erhalten wurden, sei bemerkt, daß — wenn auch nicht konstant, so immerhin in der Mehrzahl der Fälle — die anatomisch und klinisch als progredient charakterisierten, mit Zerfall einhergehenden Formen wenig oder nur ganz vereinzelt Tuberkelbacillen enthalten, während die mit menschlichen Tuberkelbacillen erzeugten Impfprodukte, die sich vollständig rückbilden können, nicht progredient sind, nicht zu Zerfall neigen, oft ganz enorme Mengen von Bacillen aufweisen, und zwar stellenweise in einer Anordnung, wie sie den Leprabacillen im Gewebe der Lepraknoten ähnelt.

Auch bei dem mit Vogeltuberkulose geimpften Versuchstiere findet man, trotzdem die klinisch und anatomisch erheblichen Veränderungen nur geringgradig und durchaus uncharakteristisch sind, ganz enorme Mengen von Tuberkelbacillen im Gewebe.



Mac. 47. Moulage vom 4. Jan. 1907.

Fig. 1.



filtrat
zellen
scharf
Zellen

groß

fest
lich
Hau

es n
Zeitl
oder
kul
erz

herv
bleil
schr
abkl

(Pe)
gut
bes
dar
lich
Ha
drf
tut
des
zel
Bi

ge

si
w
ii
u
fi
z
li
s
s
v
A
I

n
r
l

Handwritten text in a script, possibly Urdu or Persian, located at the top of the page.





Mac. 41. Moulage vom 4. Jan. 1907.

Fig. 2.

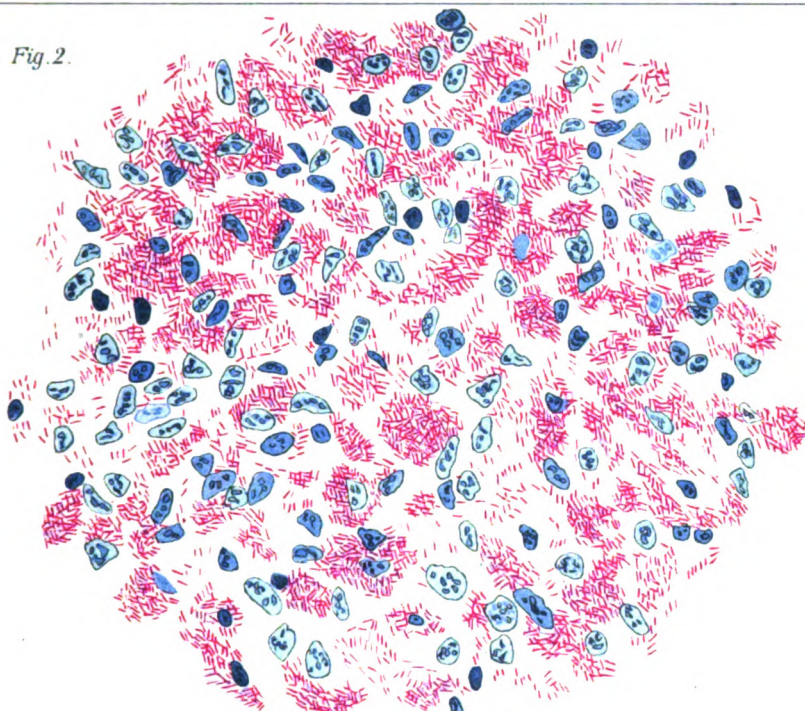
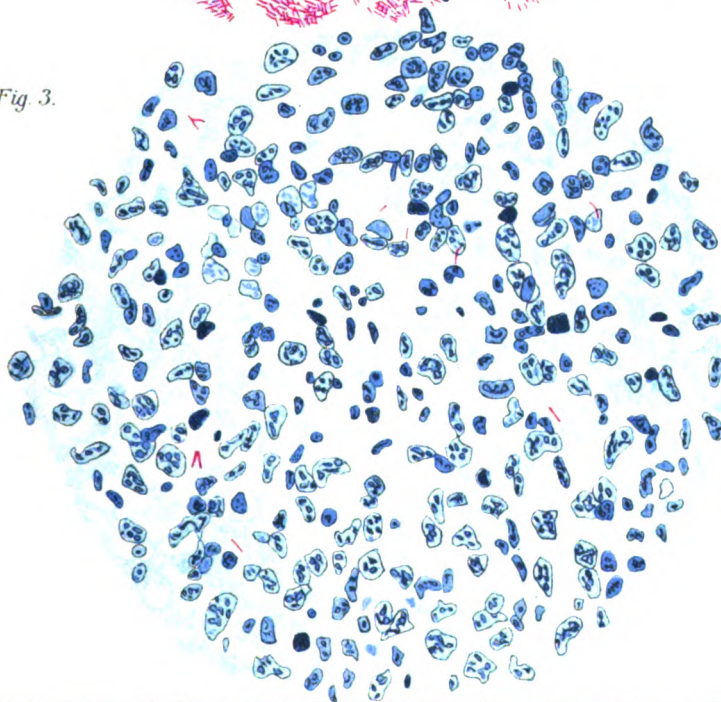


Fig. 3.



Die folgenden Versuche traten der Frage näher, ob durch eine vorgängige Infektion der Haut eine herabgesetzte Empfänglichkeit derselben gegen eine an einer anderen Stelle gesetzten Neuinfektion eingetreten sei.

1. Versuch.

So wurde der am 5. März 07 mit Stamm Perlsucht Rabinowitsch geimpfte Macac. 45, der am 21. März bereits Geschwüre an den Skarifikationsstellen und Oedem der Augenlider an der geimpften (linken) Seite zeigte, an diesem Tage mit Stamm Blasentuberkulose rechts geimpft.

26. März. 0.

8. April. 0.

15. April. Borke an der Skarifikationsstelle, keine Rötung noch Infiltration.

2. Versuch.

Der am 5. März mit Stamm Courmont links geimpfte Macac. 21, dessen lokaler Affekt am 21. März bereits im Rückgange begriffen und später völlig ausgeheilt ist, wird an diesem Tage rechts mit Stamm Blasentuberkulose geimpft. Mit dem Ergebnis, daß sich ein progredientes Geschwür entwickelt, das am 16. April bereits das ganze obere Augenlid eingenommen hat (siehe früher).

3. Versuch.

Weiter wird der am 5. März mit Stamm menschliche Tbk. Rabinowitsch geimpfte Macac. 48 am 21. März rechts mit Stamm Blasentuberkulose geimpft. Während an der erstgeimpften Stelle ein progredientes Geschwür sich entwickelt, das zu Oedem der ganzen linken Gesichtshälfte, Drüenschwellung führt, bleibt die Nachimpfung ergebnislos.

Auch Impfungen an Hautstellen, die bereits früher mit Stämmen geimpft worden waren, die ausheilende Affekte bewirkten, haben wir wiederholt vorgenommen, mit dem Ergebnisse, daß die zweite Impfung in ihrer Wirkung keine Beeinflussung erkennen ließ.

In weiteren Versuchen soll die mit Reinkulturen von Tuberkelbacillen regelmäßig erzeugbare Hauttuberkulose als Indikator für die Wirksamkeit der verschiedenen subkutanen Immunisierungsmethoden benutzt werden.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Biologie des Bacillus vitulisepticus und zur Immunisierung gegen die durch denselben hervorgerufene septische Pneumonie der Kälber.

Von **Harry Schirop.**

Die ansteckende Lungenbrustfellentzündung der Kälber hat erst in den letzten Jahren in Deutschland die Beachtung der landwirtschaftlichen Kreise gefunden, nachdem dieselbe plötzlich zu einem national-ökonomischen Mißstande herangewachsen war und die Klagen der Landwirte nach Abstellung dieser verheerenden Seuche in jüngster Zeit immer lauter wurden. Wie wenig man bis dahin mit dieser Seuche zu tun hatte, ergibt sich am besten aus den Jahresberichten der beamteten Tierärzte Preußens, denn bis zum Jahre 1901 ist dieser Krankheit in diesen Veröffentlichungen kaum Erwähnung getan. Erst im nachfolgenden Jahre berichten David und Gutzeit über das Auftreten der infektiösen Lungenbrustfellentzündung der Kälber. Letzterer sieht sie vergesellschaftet mit Kälberruhr. Auch Nocard erwähnt im Jahre 1901 eine

neue „Pasteurella“, die „White scour“ und „Lung disease“ der Kälber in Irland. Nocard faßt Kälberruhr und Kälberpneumonie als verschiedene Formen derselben Krankheit auf und beschreibt als Erreger beider Formen einen Mikroorganismus, den er wegen seiner morphologischen und biologischen Eigenschaften der Gruppe der „Pasteurella“ beigibt.

In der älteren Literatur wird schon Ende der 60er Jahre des vorigen Jahrhunderts von Schmidt diese Krankheit erwähnt, doch vergehen Jahrzehnte hierauf, ehe wir wieder von ihr hören.

Nachdem im Jahre 1879 Perroncito den Erreger der Hühnercholera entdeckte, beschreibt in der Folgezeit eine große Reihe von Autoren bei den gelegentlichen Krankheitsfällen unserer Haustiere ähnliche Bakterien, die sie in Übereinstimmung mit dem Erreger der Hühnercholera der großen Gruppe der Septicaemia haemorrhagica hinzurechnen. Diesem Bestreben der Forscher, für alle Krankheitsformen kontagiösen Charakters die Erreger derselben ausfindig zu machen, wozu vor allem R. Koch durch seine epochemachenden Arbeiten die Wege gewiesen hatte, verdanken auch wir unsere Kenntnis von dem Erreger der infektiösen Lungenbrustfellentzündung der Kälber. Poels war es, der im Jahre 1886 als Erreger der septischen Pleuropneumonie der Kälber das *Bacterium vitulicidum*, *Pneumobacillus septicus vitulorum*, unseren *Bacillus vitulisepticus* (Kitt) des näheren beschrieb. In den 80er und 90er Jahren des vorigen, wie auch im Anfange unseres Jahrhunderts weist die Literatur eine außerordentliche Fülle von Arbeiten über die ansteckende Lungenbrustfellentzündung der Kälber auf, worin die Untersuchungen Poels bestätigt und zum Teil erweitert werden. Die meisten Autoren jedoch beschränken sich auf Angabe des klinischen und pathologisch-anatomischen Befundes, dessen Ähnlichkeit mit dem der Schweineseuche von allen Beobachtern übereinstimmend betont wird. Alle Mittel zur Bekämpfung der immer fühlbarer werdenden Seuche erstrecken sich auf vorbeugende Maßnahmen, wie Stallhygiene, peinlichste Desinfektion bei der Geburt und sorgsamste Nabelpflege. Eine medikamentöse Behandlung wird als aussichtslos verworfen. Erst im Jahre 1903 bringt Evers die Serumtherapie in Anwendung, deren immer weiterer Ausbau nach den bisher gezeigten Erfolgen uns zur Annahme der Hoffnung berechtigen, daß wir auch dieser, die Landwirtschaft so schwer schädigenden Seuche vollends Herr werden.

• Zur Bearbeitung des mir gestellten Themas standen mir zunächst 3 Stämme des *Bac. vitulisepticus* zur Verfügung, die von mir aus eingesandten Organen verendeter Kälber isoliert wurden, indem Meerschweinchen und Mäuse mittelst Verreibungen der zu diagnostischen Zwecken übersandten Organteile infiziert wurden. Aus dem Herzblut der der Infektion erlegenen Versuchstiere wurden die zu bearbeitenden Stämme in Reinkultur gewonnen. Die Virulenz der Kulturen wurde neben 8-tägigem Umstechen durch Bouillon auf Schrägagar mittelst 4-wöchentlicher Passagen, abwechselnd durch Meerschweinchen und Kaninchen, aufrecht erhalten und im Verlaufe der Arbeit durch mehrfache unten angegebene Virulenzprüfungen an den verschiedenlichsten Versuchstieren festgestellt. Die Bezeichnung der Kulturen erfolgte auf Grund der im Landsberger bakteriologischen Institute geführten Sektionsprotokolle. Den Stamm Kpn. 256 züchtete ich aus Organen (Milz und Darmkanal), die am 15. Dezbr. 1906 vom Gutsbesitzer H. auf Gut W.

in Ostpreußen übersandt wurden. Die Organe (Leber, Dickdarm), woraus mittelst diagnostischer Impfung der Stamm Kpn. 13 gewonnen wurde, stammten vom Rittergutsbesitzer v. W. auf P. in Ostpr. Der Stamm Kpn. 18 wurde aus der Lunge eines Kalbes isoliert, die von der Rittergutsverwaltung des Frhrn. v. F. auf H. in Sachsen zugeschickt wurde. Der Versuchsplan der Arbeit war folgender:

- I. Untersuchungen über die biologischen Verhältnisse des *Bac. vitulisepticus*.
- II. Immunisierungsversuche gegen die ansteckende Lungenbrustfellentzündung der Kälber mit Hilfe „aggressiver Exsudate“ nach Bail, mit Bakterien-Extrakten nach Wassermann und Citron.
- III. Prüfungen über Mono- oder Polyvalenz der Sera gegen die infektiöse Pneumonie der Kälber.

Untersuchungen über die biologischen Verhältnisse des *Bac. vitulisepticus*.

Die kulturellen Untersuchungen erstreckten sich auf folgende Nährböden resp. Reaktionen:

- 1) Gewöhnliche alkalische Nährbouillon.
- 2) Gewöhnlicher alkalischer Schrägagar.
- 3) Agarplatten.
- 4) Rothbergers Neutralrotagar.
- 5) Gelatinestich.
- 6) Aussaat auf Kartoffeln.
- 7) Lackmusmolke.
- 8) Indolbildung.
- 9) Milch.
- 10) Vergärung einiger Zuckerarten.

Zum Vergleiche wurden die ebenfalls zur Gruppe der hämorrhagischen Septikämie gehörigen Kulturen der Schweineseuche und Geflügelcholera herangezogen. Sämtliche Untersuchungen wurden zum größten Teil nach 24 Stunden vorgenommen.

1) Gewöhnliche alkalische Nährbouillon.

Alle Kulturen zeigten auf unseren gebräuchlichen Pferde- oder Rindfleischnährböden üppiges und gleichmäßiges Wachstum, sobald ihrem ziemlich starken Alkalibedürfnis nachgekommen wurde, das bei einer deutlichen Phenolphthaleïn-Reaktion zu erreichen war. Kpn. 13 bildet einen knäuel- bis zopfartigen, teilweise sich zu einem großen Konvolute zusammenballenden Bodensatz, der sich in einigen Kulturen nur durch außerordentlich starkes Schütteln vom Boden ablöst, sich vorerst in groben Flocken in der überstehenden, fast klaren Flüssigkeit verteilt, um sich bei anhaltendem Schütteln in Form feinsten Bröckelchen aufzulösen. Ähnlich verhält sich Kpn. 18. Der Bodensatz ist hier jedoch nicht so kompakt, sondern er löst sich leichter vom Boden ab und verteilt sich schließlich schneeflockenartig in der ebenfalls fast klaren Kulturflüssigkeit. Beide Stämme behielten nach den verschiedenlichsten Umzüchtungen vorstehende Eigenschaften konstant, auch gelang es mir bei späteren Einsendungen verendeter Kälber eine ähnliche Kultur aus den Organen zu isolieren. Kpn. 256 zeigt nach 24-stündigem Wachstum bei 37° C, ebenso wie Schweineseuche und Geflügelcholera, eine gleichmäßige Trübung des Mediums mit geringem Bodensatz. Dieser besteht aus

einem dünnen zopfbartigen Gebilde, das unschwer beim Schütteln vom Boden aufsteigt und sich rasch in der Kulturflüssigkeit auflöst.

2) Gewöhnlicher alkalischer Schrägagar.

In der Agarkultur wachsen Kpn. 13, 18, 256, ebenso wie Schweineseuche und Geflügelcholera, als üppige, homogene, grauweiße bis grau-blaue Beläge. Kondenswasser ist bei allen Kulturen am Grunde mit grauweißem, beim Schütteln schleierartig aufsteigendem Bodensatz durchsetzt.

3) Agarplatten-Kulturen.

Die Kolonien sind nach 24-stündigem Wachstum auf allen Platten gut isoliert. Sie haben bei allen untersuchten Stämmen (Kpn. 13, 18, 256, Schweineseuche und Geflügelcholera) kreisrunde Form mit vollkommen glattem Rande und erheben sich flach über die Oberfläche. Sie sind saftig glänzend und von schleimiger Konsistenz; beim Abimpfen lassen sie sich leicht abheben. Der Nährboden selbst ist in allen Fällen ohne Trübung. Bei schwacher Vergrößerung (53/1) präsentieren sich die Oberflächenkolonien als undurchsichtige, bräunlich gefärbte, feinpunktierte bis feingranulierte Ansiedelungen, mit schmalem, völlig farblosem, scharf begrenztem Rande, der allmählich in einen bräunlichen Farbenton übergeht. Der Bau der einzelnen Kolonien erscheint bei stärkerer Vergrößerung (91/1) bei Kpn. 13 sehr fein granuliert mit ganz schmaler, farbloser Randzone, die allmählich eine bräunliche Farbe annimmt und nach der Mitte zu, um die ziemlich große, ellipsenförmige bis kreisrunde Ausgangsstelle der Kolonie, dem sogenannten Nabel, völlig undurchsichtig wird. Kpn. 18 zeigt feingranulierte Zeichnung mit schmaler, farbloser Randzone. Um den ellipsen-, kreis- oder wetzsteinförmigen Nabel ist der bräunliche Farbenton bedeutend durchsichtiger wie bei Kpn. 13. Kpn. 256 hat eine feingranulierte Zeichnung, schmale, farblose Randzone, ellipsen-, auch kreisförmigen Nabel. Die ganze Kolonie ist etwas undurchsichtiger wie bei Kpn. 18.

Schweineseuche stimmt mit Kpn. 256 völlig überein; der Nabel ist jedoch kreisrund und schärfer begrenzt. Geflügelcholera ist etwas gröber granuliert als die übrigen Stämme. Die Farbe der Kolonie ist hellbraun und durchsichtig wie Kpn. 18. Der Nabel ist ellipsenförmig.

4) Rothbergers Neutralrotagar.

Rothbergers Neutralrotagar wird von keinem Stamme gesprengt, noch entfärbt.

5) Gelatinestich.

Gelatine wird von keinem Stamme verflüssigt. Das Wachstum ist auf die Einstichstelle beschränkt. Kreisförmig um die Einstichstelle herum, ca. 1 cm im Durchmesser, findet Oberflächen-Wachstum statt. Die Auflagerungen sind teils dünn, teils dick, an den Rändern gebuchtet und von schleimiger Konsistenz. Impfstich ungefähr 1 cm unterhalb der Einstichstelle zusammenhängend, dann unterbrochen, aus goldgelben, stecknadelkopfgroßen Kügelchen bestehend.

6) Aussaat auf Kartoffeln.

Dieselbe ausgeprägte Abhängigkeit von der Reaktion des Kartoffelnährbodens, die von Joest für den Schweineseucheerreger beschrieben ist, habe ich durch meine Untersuchungen für den *Bac. vitulisepticus*

nachweisen können. Auf halbierte Kartoffelzylinder nach den Angaben von Bolton, Globig und Günther wurden 3 große Oesen 24-stündiger Bouillonkultur verimpft. Die Kartoffelzylinder reagierten deutlich sauer. Nach 24-stündigem Verweilen bei 37° C zeigte nur Stamm Kpn. 13 einen etwa pfennigstückgroßen, bräunlichweißen Belag. Die mit *Bact. coli* geimpften Kontrollkulturen wiesen nach derselben Zeit einen mäßig starken, gelblichen Ueberzug auf. Es wurden nunmehr 1-, 3-, 5-, 10-proz. und gesättigte Sodalösungen hergestellt und die Kartoffelnährböden hierin in der einen Versuchsreihe 24 Stunden, in der anderen hingegen 72 Stunden belassen und hierauf sorgfältig 2mal sterilisiert. In der ersten Reihe zeigten die Kartoffelzylinder mit 1-proz. Sodazusatz einen dünnen, saftig-glänzenden, gelblich- bis grau-weißen Rasen, der bei Geflügelcholera etwas schwächer ausgebildet war, während sich bei 3-proz. Sodazusatz bei allen Kulturen ein dicker, saftig bis fettglänzender, gelblicher Ueberzug, am stärksten bei Schweineseuche (ovale Form) und am schwächsten bei Kpn. 18 gebildet hatte. Die Nährböden mit 5- und 10-proz. Sodazusatz zeigten nur vereinzelt an wenigen Stellen und in ganz dünner Schicht gelblichen Belag, während bei gesättigter Sodalösung jegliches Wachstum ausblieb. In der zweiten Versuchsreihe nach 3-tägigem Verweilen in den verschiedenen Sodalösungen zeigten die Nährböden mit 1-proz. Sodazusatz nach 24-stündigem Aufenthalte im Bruttofen außerordentlich starkes Wachstum. In dicker Schicht präsentierte sich der gelbliche bis grauweiße, fettglänzende Rasen. Bei 3-proz. Zusatz zeigte nur Kpn. 256 und Schweineseuche üppiges Wachstum. Kpn. 13 hatte die Kartoffel nur in einer ganz dünnen, feinen, gelblich-weißen Schicht überzogen, während Kpn. 18 und Geflügelcholera erst nach 48 Stunden sichtbares Wachstum, und zwar Kpn. 18 wiederum stärkeres, als Geflügelcholera aufwiesen. Auf den mit den noch stärkeren Sodalösungen behandelten Kartoffelzylindern war jegliches Wachstum unterblieben. In allen Kartoffelkulturen wurde durch Abimpfen der Rasen auf Bouillonährböden die Identität des Erregers nachgewiesen. Als notwendige Lebensbedingung des *Bac. vitulisepticus* auf Kartoffelnährböden hat sich somit eine nicht allzu schwache Alkaleszenz erwiesen, und zwar erzielt man das beste Wachstum durch 1–3-tägiges Verweilen der Kartoffelnährböden in einer 1–3-proz. Sodalösung.

7) Lackmusmolke.

Neutrale Lackmusmolke nach Petruschky wird von allen Stämmen einschließlich Schweineseuche und Geflügelcholera nicht verändert. Nach 5-tägigem Aufenthalt im Brutschranke bei 37° C ist die Reaktion dieselbe. Nach weiteren 5 Tagen ist das äußerliche Verhalten der Kulturen wie auch die Reaktion derselben die gleiche. Zur Kontrolle wird *Bact. coli* auf Lackmusmolke verimpft; es tritt Entfärbung ein. Das Wachstum der Stämme in der Lackmusmolke wurde durch Ueberimpfen auf Bouillonährböden nachgewiesen.

8) Indolbildung.

In Peptonwasser mit 1-proz. Peptongehalt wird nach Zusatz von 0,5 ccm reiner Schwefelsäure und 0,1 ccm einer 0,02-proz. NaNO_2 -Lösung, Rotfärbung mit Ausnahme von Kpn. 18 erzielt. In 24-stündigen Bouillonkulturen tritt erst nach Hinzufügen von 0,5 NaNO_2 ein rötlicher Farbenton auf. In der Fleischwasserbouillon, die zur Vergärung der verschiedenen Zuckerarten benutzt wurde, zeigte sich dagegen wieder

Leptonwasser 1-proz.	Monohexosen			Pentosen	Disaccharide		Tri- saccharide	Polyvalente Alkohole				
0,4-proz.	Fructose	Galaktose	Glukose	Arabinose	Maltose	Saccha- rose	Raffinose	Sorbit	Melam- pyrit	Erythrit	Adonit	Mannit
Kpn. 13	S.	Spur S.	Spur S.	0	0	S.	0	Spur S.	0	0	0	Spur S.
Kpn. 18	0	0	Spur S.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kpn. 256	Spur S.	Spur S.	Spur S.	0	0	Spur S.	0	Spur S.	0	0	0	Spur S.
Schweineuche	S.	S.	S.	—	0	S.	0	S.	0	0	0	Spur S.
Gefügelcholera												
Kr. 17	—	—	—	L.S.	—	—	—	—	L.S.	—	—	—
Kr. 19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	L.S.	L.S.
Kr. 22	—	—	—	—	—	—	L.S.	—	—	—	—	L.S.
Kr. 24	—	—	—	L.S.	L.S.	—	—	L.S.	—	—	—	—
Kr. 25	L.S.	L.S.	L.S.	—	—	L.S.	—	—	—	—	—	—
Kr. 26	—	—	—	L.S.	L.S.	S.	—	L.S.	—	—	—	L.S.
Kr. 50	L.S.	L.S.	L.S.	—	—	Kuppe L.	—	—	—	—	—	—
Kontrolle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Zuckerfreie Bouillon	Monohexosen			Pentosen	Disaccharide		Tri- saccharide	Polyvalente Alkohole				
0,5-proz.	Fructose	Galaktose	Glukose	Arabinose	Maltose	Saccha- rose	Raffinose	Sorbit	Melam- pyrit	Erythrit	Adonit	Mannit
Kpn. 13	S.	Spur S.	Spur S.	0	0	S.	0	Spur S.	0	0	0	S.
Kpn. 18	0	Spur S.	Spur S.	0	0	Spur S.	0	0	0	0	0	0
Kpn. 256	Spur S.	Spur S.	Spur S.	0	0	S.	0	Spur S.	0	0	0	S.
Schweineuche	0	Spur S.	Spur S.	0	0	S.	0	S.	0	0	0	S.
Gefügelcholera	S.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kr. 14	L.S.	—	—	—	—	—	—	L.	—	—	—	—
Kr. 19	—	—	—	—	—	—	—	Spur S.	L.S.	—	—	—
Kr. 22	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	L.S.	L.S.
Kr. 24	—	—	—	—	—	—	L.S.	—	—	—	—	—
Kr. 25	—	L.S.	—	L.S.	L.S.	—	—	—	—	—	—	—
Kr. 26	—	—	—	—	—	L.S.	—	—	—	—	—	—
Kr. 26	—	—	Spur S.	—	—	L.S.	—	—	—	—	—	—
Kontrolle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	0	0

nach Zusatz einer geringen Menge von NaNO_2 -Lösung eine deutliche Rotfärbung (Nitrosoindolreaktion).

9) Milch.

Normale sterilisierte Milch von amphoterer Reaktion wird von Kpn. 13, 18, 256, Schweineseuche und Geflügelcholera nicht zur Koagulation gebracht. Noch nach 4-wöchigem Verbleiben im Brutschranke ist die Reaktion die gleiche. Auch hier wird der Nachweis für das Wachstum der Kulturen in der Milch durch Verimpfen auf Bouillon erbracht.

10) Vergärung einiger Zuckerarten.

Die Vergärungen der verschiedenen Zuckerarten fanden auf zweierlei Art statt. Anfangs wurde ein Peptonwasser benutzt, das aus physiologischer Kochsalzlösung mit Zusatz von 1 Proz. Pepton sicc. Witte hergestellt war. Kurz vor dem Gebrauch wurden die verschiedenen Zuckerarten in einer Konzentration von $\frac{4}{10}$ Proz. hinzugefügt und dann sorgfältig sterilisiert. Die Vergärung wurde in Gärungsröhrchen nach Dunham vorgenommen. Das Wachstum der Seucheerreger in dem Peptonwasser war teilweise sehr schwach und deshalb wurde in der zweiten Tabelle zur Vergärung eine zuckerfreie Bouillon nach den Angaben von Smith verwandt. Dieselbe bestand aus Fleischwasser, das durch Vergärung mit *Bacterium coli* vom vorhandenen Muskelzucker vollkommen befreit war, und dem die betreffenden Zuckerarten in einem Gehalte von 0,5 Proz. zugesetzt wurden. Als Kontrollen dienten Kälber-ruhrstämme, deren Säure- und Gasbildung bei den einzelnen Zuckerarten durch eine frühere, von anderer Seite ausgeführte Arbeit bekannt war. Außerdem wurde jedesmal als Kontrolle ein Röhrchen Peptonwasser resp. zuckerfreie Bouillon mit einer Oese desjenigen Kälber-ruhrstammes in ein Gärungsröhrchen übergefüllt, der bei Anwesenheit der betreffenden Zuckerart eine Säure- und Gasbildung hervorgerufen hatte.

Pathogenität des *Bacillus vitulisepticus* gegenüber den verschiedenen Versuchstierarten durch künstliche Infektion.

Durch die mehrfach während der Arbeit angestellten Virulenzbestimmungen an den gebräuchlichsten Laboratoriumstieren konnte festgestellt werden, daß sich die Virulenz der bearbeiteten Kulturen während des ganzen Verlaufes der Untersuchungen nicht im geringsten Maße herabgesetzt hatte, was durch 4-wöchentliche Passagen an Kaninchen und Meerschweinchen, die in der letzten Zeit nur alle 8 Wochen wiederholt wurden, erreicht worden war. Modifikationen in der Virulenz für die Tierarten, mit denen die Passagen vorgenommen wurden, habe ich nicht feststellen können. Das günstige Resultat in dem absolut vollständigen Beibehalten der Virulenz ist weiterhin in dem regelmäßigen Uebertragen der Kulturen nach 8 bis höchstens 10 Tagen auf frische, der Lebensbedingung des *Bac. vitulisepticus* sorgfältigst angepaßte Nährböden und peinlichste Sorge für Abhaltung jeglicher Lichteinwirkung zu suchen.

Angestellte Fütterungsversuche mit weißen Ratten hatten nur in einem Falle ein positives Ergebnis. Es gelang eine weiße Ratte nach Verfütterung von 10 ccm 24-stündiger Bouillonkultur des Stammes Kpn. 13 im Verlaufe von 6 Tagen, innerhalb 36 Stunden nach der letzten Verabreichung der Kulturen, zu töten. Die aus dem Herzblute

angelegten Kulturen ergaben das für den Stamm Kpn. 13 charakteristische Wachstum. Eine mit dem Stamme Kpn. 18 gefütterte Ratte wurde 9 Tage nach dem letzten Füttern mit $\frac{1}{1000}$ ccm 24-stündiger Bouillonkultur intrathorakal infiziert. Während die Kontrolle innerhalb 36 Stunden starb, blieb die gefütterte Ratte (10 ccm Bouillonkultur) am Leben. Bei dem Stamme Kpn. 256 blieb sowohl die gefütterte Ratte wie auch die Kontrolle am Leben.

Stamm Kpn. 13.

I. Graue Hausmäuse.

No.	Datum	Kennzeichen	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1.	29. Jan. 1907	M.O.A.	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	+ 24 Std.	Kulturen: Seuche
2.	"	"	"	+ 48 "	"
3.	"	l. Ohr	$\frac{1}{1000}$ ccm subk.	+ 18 "	"
4.	"	"	"	+ 48 "	"
5.	"	r. Ohr	$\frac{1}{100}$ ccm subk.	+ 24 "	"
6.	"	"	"	+ 24 "	"
1.	5. März 1907	M.O.A.	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	+ 42 Std.	Kulturen: Seuche
2.	"	"	"	+ 42 "	"
3.	"	l. Ohr	$\frac{1}{1000}$ ccm subk.	+ 18 "	"
4.	"	"	"	+ 24 "	"
5.	"	r. Ohr	$\frac{1}{100}$ ccm subk.	+ 24 "	"
6.	"	"	"	+ 24 "	"
1.	21. Juni 1907	M.O.A.	$\frac{1}{100}$ Mill. ccm subk.	+ 48 Std.	Kulturen: Seuche
2.	"	"	"	+ 5 Tage	"
3.	"	l. Ohr	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm subk.	+ 36 Std.	"
4.	"	"	"	+ 4 Tage	"
5.	"	r. Ohr	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	+ 48 Std.	"
6.	"	"	"	+ 56 "	"
7.	"	Schwanz	$\frac{1}{1000}$ ccm subk.	+ 28 "	"
8.	"	"	"	+ 48 "	"
9.	"	Schwanz, l. Ohr	$\frac{1}{100}$ ccm subk.	+ 24 "	"
10.	"	"	"	+ 48 "	"
1.	23. Okt. 1907	M.O.A.	$\frac{1}{1000}$ Mill. ccm subk.	+ 60 Std.	Kulturen: Seuche
2.	"	"	"	lebt	"
3.	"	l. Ohr	$\frac{1}{100}$ Mill. ccm subk.	+ 48 Std.	Kulturen: Seuche
4.	"	"	"	+ 60 "	"
5.	"	r. Ohr	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm subk.	+ 36 "	"
6.	"	"	"	+ 36 "	"
7.	"	beide Ohren	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	+ 42 "	"
8.	"	"	"	+ 42 "	"

II. Kaninchen.

No.	Datum	Kennzeichen	Ge- wicht	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1.	27. Febr. 07	l. Vorderf. rot	1410 g	$\frac{1}{100}$ ccm ip.	+ 24 Std.	Kulturen: Seuche
2.	28. Febr. 07	r. Vorderf. rot	1920 "	$\frac{1}{1000}$ ccm ip.	+ 24 "	"
3.	2. Mai 07	schwarz	1520 "	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	+ 24 "	"
4.	25. Juni 07	ohne Z.	900 "	$\frac{1}{1000000}$ ccm ip.	+ 26 "	"
5.	25. Nov. 07	l. Ohr rot	870 "	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm subk.	+ 24 "	"
6.	27. Nov. 07	r. Ohr rot	850 "	$\frac{1}{1000}$ Mill. ccm subk.	+ 30 "	"

III. Meerschweinchen.

No.	Datum	Kennzeichen	Ge- wicht	Infektionsmenge	Verlauf	Be- merkungen
1.	19. März 07	Nacken rot	200 g	$\frac{1}{100}$ ccm ip.	+ 24 Std.	Kulturen: Seuche
2.	"	Stirn rot	200 "	$\frac{1}{1000}$ ccm ip.	+ 36 "	"
3.	4. Juni 07	r. Vorderf. rot	179 "	$\frac{1}{10000}$ ccm ip.	+ 24 "	"
4.	29. Juli 07	ohne Z.	380 "	$\frac{1}{1000}$ ccm subk.	lebt	—
5.	18. Sept. 07	"	200 "	$\frac{1}{10000}$ ccm ip.	+ 19 Std.	Kulturen: Seuche
6.	21. Okt. 07	Nacken rot	165 "	$\frac{1}{1000000}$ ccm ip.	+ 22 "	"
7.	25. Okt. 07	Steiß rot	165 "	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm ip.	+ 22 "	"
8.	"	Stirn rot	190 "	$\frac{1}{100}$ Mill. ccm ip.	+ 36 "	"
9.	8. Nov. 07	"	205 "	$\frac{1}{1000}$ Mill. ccm ip.	lebt	—

IV. Weiße Ratten.

No.	Datum	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1.	7. Juni 07	$\frac{1}{1000}$ ccm intrath.	lebt	—
2.	"	"	"	graue Ratte
3.	20. Juni 07	$\frac{1}{100}$ ccm intrath.	+ 48 Std.	Kulturen: Seuche
4.	9. Okt. 07	"	+ 48 "	"
5.	"	$\frac{1}{1000}$ ccm intrath.	+ 51 "	"
6.	11. Okt. 07	$\frac{1}{10000}$ ccm intrath.	+ 42 "	"
7.	1. Nov. 07	$\frac{1}{100000}$ ccm intrath.	lebt	—
8.	"	$\frac{1}{1000000}$ ccm intrath.	+ $4\frac{3}{4}$ Tage	Kulturen: Seuche
9.	18. Nov. 07	$\frac{1}{100}$ ccm ip.	+ 18 Std.	"
10.	"	$\frac{1}{1000}$ ccm ip.	+ 24 "	"
11.	24. Nov. 07	$\frac{1}{10000}$ ccm ip.	lebt	—
12.	26. Nov. 07	$\frac{1}{100}$ ccm subk.	"	—

V. Tauben.

Die Stämme Kpn. 13 und Kpn. 18 erwiesen sich für Tauben gegenüber dem Stamme Kpn. 256 fast avirulent. $\frac{1}{100}$ ccm 24-stündiger Bouillonkultur intramuskulär, vermochte bei beiden Stämmen kein Tier zu töten. Kpn. 256 dagegen tötete mit einer Dosis von $\frac{1}{1000}$ ccm eine mittlere Taube nach 12 Stunden und mit $\frac{1}{1000000}$ ccm im. eine solche innerhalb 28 Stunden.

VI. Sperlinge.

No.	Datum	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1.	4. Juni 07	$\frac{1}{1000}$ ccm intram.	+ 24 Std.	Kulturen: Seuche
2.	6. Juni 07	$\frac{1}{10000}$ ccm intram.	+ 24 "	"
3.	13. Juni 07	$\frac{1}{100000}$ ccm intram.	+ 24 "	"
4.	17. Juni 07	$\frac{1}{1000000}$ ccm intram.	+ 24 "	"
5.	29. Okt. 07	$\frac{1}{1000000}$ Mill. ccm intram.	+ 40 "	"
6.	8. Nov. 07	$\frac{1}{100}$ Mill. ccm intram.	+ 42 "	"

Stamm Kpn. 18.
I. Graue Hausmäuse.

No.	Datum	Kennzeichen	Infektionsmenge	Verlauf	Be- merkungen
1.	12. Febr. 1907	M.O.A.	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	† 5 Tage	Kulturen: Seuche
2.	"	"	"	lebt	—
3.	"	l. Ohr	$\frac{1}{1000}$ ccm subk.	† 48 Std.	Kulturen: Seuche
4.	"	"	"	† 4 Tage	"
5.	"	r. Ohr	$\frac{1}{100}$ ccm subk.	† 48 Std.	"
6.	"	"	"	† $3\frac{1}{2}$ Tage	"
1.	5. März 1907	M.O.A.	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	† $4\frac{3}{4}$ Tage	Kulturen: Seuche
2.	"	"	"	"	"
3.	"	l. Ohr	$\frac{1}{1000}$ ccm subk.	† 54 Std.	"
4.	"	"	"	† 66 "	"
5.	"	r. Ohr	$\frac{1}{100}$ ccm subk.	† 66 "	"
6.	"	"	"	† 66 "	"
1.	21. Juni 1907	M.O.A.	$\frac{1}{100}$ Mill. ccm subk.	† 48 Std.	Kulturen: Seuche
2.	"	"	"	† 48 "	"
3.	"	l. Ohr	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm subk.	† 48 "	"
4.	"	"	"	† 56 "	"
5.	"	r. Ohr	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	† 24 "	"
6.	"	"	"	† 28 "	"
7.	"	Schwanz	$\frac{1}{1000}$ ccm subk.	† 28 "	"
8.	"	"	"	† 36 "	"
9.	"	Schwanz, l. Ohr	$\frac{1}{100}$ ccm subk.	† 24 "	"
10.	"	"	"	† 48 "	"
1.	23. Okt. 1907	M.O.A.	$\frac{1}{1000}$ Mill. ccm subk.	† $6\frac{1}{2}$ Tage	Kulturen: Seuche
2.	"	"	"	lebt	—
3.	"	l. Ohr	$\frac{1}{100}$ Mill. ccm subk.	† 36 Std.	Kulturen: Seuche
4.	"	"	"	lebt	—
5.	"	r. Ohr	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm subk.	† 42 Std.	Kulturen: Seuche
6.	"	"	"	† 42 "	"
7.	"	beide Ohren	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	† 42 "	"
8.	"	"	"	† 48 "	"

II. Kaninchen.

No.	Datum	Kennzeichen	Ge- wicht	Infektionsmenge	Verlauf	Be- merkungen
1.	28. Febr. 07	l. Ohr rot	1230 g	$\frac{1}{100}$ ccm ip.	† 24 Std.	Kulturen: Seuche
2.	5. April 07	r. Ohr rot	1350 "	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	† 72 "	"
3.	2. Mai 07	gelb	1750 "	$\frac{1}{1000}$ ccm ip.	† 24 "	"
4.	24. Juni 07	l. Ohr rot	830 "	$\frac{1}{1000000}$ ccm ip.	† 22 "	"
5.	23. Nov. 07	"	720 "	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm subk.	† 23 "	"
6.	27. Nov. 07	"	760 "	$\frac{1}{1000}$ Mill. ccm subk.	lebt	—
7.	5. Dez. 07	grau	800 "	"	† 31 Std.	Kulturen: Seuche

III. Meerschweinchen.

No.	Datum	Kennzeichen	Gewicht	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1.	19. März 07	Nacken blau	250 g	$\frac{1}{100}$ ccm ip.	† 12 Std.	Kulturen: Seuche
2.	"	Stirn blau	250 "	$\frac{1}{1000}$ ccm ip.	† 12 "	"
3.	4. Juni 07	r. Vorderf. blau	192 "	$\frac{1}{100000}$ ccm ip.	† 42 "	"
4.	29. Juli 07	Stirn blau	240 "	$\frac{1}{1000}$ ccm subk.	lebt	—
5.	21. Okt. 07	r. Vorderf. blau	175 "	$\frac{1}{1000000}$ ccm ip.	† 23 Std.	Kulturen: Seuche
6.	"	ohne Z.	165 "	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm ip.	lebt	—
7.	8. Nov. 07	Stirn blau	190 "	"	† 27 Std.	Kulturen: Seuche
8.	15. Nov. 07	"	170 "	$\frac{1}{100}$ Mill. ccm ip.	lebt	—

IV. Ratten.

No.	Datum	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1.	9. Okt. 07	$\frac{1}{100}$ ccm intrath.	† 32 Std.	Kulturen: Seuche
2.	"	$\frac{1}{1000}$ ccm intrath.	† 77 "	"
3.	11. Okt. 07	$\frac{1}{100000}$ ccm intrath.	† 5 Tage	"
4.	1. Nov. 07	$\frac{1}{1000000}$ ccm intrath.	† 8 "	Kulturen: steril
5.	"	$\frac{1}{10000000}$ ccm intrath.	† 4 $\frac{1}{2}$ "	Kulturen: Seuche
6.	20. Sept. 07	$\frac{1}{100}$ ccm ip.	lebt	—
7.	"	$\frac{1}{1000}$ ccm ip.	† 27 Std.	Kulturen: Seuche
8.	24. Sept. 07	$\frac{1}{100}$ ccm ip.	lebt	—
9.	26. Nov. 07	$\frac{1}{1000}$ ccm ip.	† 36 Std.	Kulturen: Seuche
10.	"	$\frac{1}{100}$ ccm ip.	† 20 "	"
11.	"	$\frac{1}{100}$ ccm subk.	lebt	—

V. Sperlinge.

No.	Datum	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1.	4. Juni 07	$\frac{1}{1000}$ ccm intram.	† 24 Std.	Kulturen: Seuche
2.	6. Juni 07	$\frac{1}{100000}$ ccm intram.	† 24 "	"
3.	13. Juni 07	$\frac{1}{1000000}$ ccm intram.	† 42 "	"
4.	17. Juni 07	$\frac{1}{10000000}$ ccm intram.	† 36 "	"
5.	29. Okt. 07	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm intram.	† 42 "	"
6.	8. Nov. 07	$\frac{1}{100}$ Mill. ccm intram.	† 3 $\frac{3}{4}$ Tage	"

Stamm Kpn. 256.

I. Graue Hausmäuse.

No.	Datum	Kennzeichen	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1.	19. Dez. 1906	M.O.A.	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	Alle Mäuse tot in der Nacht vom 19. zum 20. Dez.	Kulturen: Seuche
2.	"	"	"	"	"
3.	"	l. Ohr	$\frac{1}{1000}$ ccm subk.	"	"
4.	"	"	"	"	"
5.	"	r. Ohr	$\frac{1}{100}$ ccm subk.	"	"
6.	"	"	"	"	"

No.	Datum	Kennzeichen	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1.	5. März 1907	M. O. A.	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	Alle Mäuse tot nach 18 Stunden	Kulturen: Seuche
2.	"	"	"	"	"
3.	"	l. Ohr	$\frac{1}{1000}$ ccm subk.	"	"
4.	"	"	"	"	"
5.	"	r. Ohr	$\frac{1}{100}$ ccm subk.	"	"
6.	"	"	"	"	"
1.	21. Juni 1907	M. O. A.	$\frac{1}{100}$ Mill. ccm subk.	+ 28 Std.	Kulturen: Seuche
2.	"	"	"	+ 42 "	"
3.	"	l. Ohr	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm subk.	+ 18 "	"
4.	"	"	"	+ 24 "	"
5.	"	r. Ohr	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	+ 18 "	"
6.	"	"	"	+ 24 "	"
7.	"	Schwanz	$\frac{1}{1000}$ ccm subk.	} Tot nach 18 Stunden	"
8.	"	"	"		"
9.	"	Schwanz, l. Ohr	$\frac{1}{100}$ ccm subk.		"
10.	"	"	"	"	"
1.	17. Okt. 1907	M. O. A.	$\frac{1}{1000}$ Mill. ccm subk.	+ 25 Std.	Kulturen: Seuche
2.	"	"	"	+ 5 $\frac{3}{4}$ Tage	"
3.	"	l. Ohr	$\frac{1}{100}$ Mill. ccm subk.	+ 24 Std.	"
4.	"	"	"	+ 28 "	"
5.	"	r. Ohr	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm subk.	+ 18 "	"
6.	"	"	"	+ 27 "	"
7.	"	beide Ohren	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	+ 18 "	"
8.	"	"	"	+ 18 "	"

II. Kaninchen.

No.	Datum	Kennzeichen	Gewicht	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1.	28. Febr. 07	r. Ohr rot	1475 g	$\frac{1}{100}$ ccm ip.	+ 24 Std.	Kulturen: Seuche
2.	2. Mai 07	grau	1620 "	$\frac{1}{1000}$ ccm ip.	+ 24 "	"
3.	24. Juni 07	r. Ohr rot	750 "	$\frac{1}{1000000}$ ccm ip.	lebt	—
4.	27. Juni 07	ohne Z.	1050 "	$\frac{1}{1000}$ ccm ip.	+ 22 Std.	Kulturen: Seuche
5.	12. Aug. 07	"	1100 "	$\frac{1}{1000}$ ccm subk.	+ 18 "	"
6.	14. Aug. 07	"	950 "	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	+ 18 "	"
7.	22. Nov. 07	"	920 "	"	+ 16 "	"
8.	"	beide Ohr. rot	720 "	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm subk.	+ 18 "	"
9.	26. Nov. 07	"	850 "	$\frac{1}{1000}$ Mill. ccm subk.	+ 42 "	"

III. Meerschweinchen.

No.	Datum	Kennzeichen	Gewicht	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1.	19. März 07	Stirn grün	250 g	$\frac{1}{100}$ ccm ip.	+ 19 Std.	Kulturen: Seuche
2.	"	Nacken grün	250 "	$\frac{1}{1000}$ ccm ip.	+ 36 "	"
3.	4. Juni 07	r. Vorderf. grün	151 "	$\frac{1}{10000}$ ccm ip.	+ 24 "	"
4.	29. Juli 07	Stirn grün	270 "	$\frac{1}{1000}$ ccm subk.	lebt	—
5.	16. Okt. 07	"	490 "	$\frac{1}{1000}$ ccm ip.	+ 18 Std.	Kulturen: Seuche
6.	"	Stirn rot	240 "	$\frac{1}{100000}$ ccm ip.	+ 17 "	"
7.	"	Nacken grün	240 "	$\frac{1}{1000000}$ ccm ip.	+ 24 "	"
8.	"	Steiß grün	220 "	$\frac{1}{1000000}$ ccm ip.	+ 18 "	"

No.	Datum	Kennzeichen	Gewicht	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
9.	17. Okt. 07	Stirn grün	170 g	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm ip.	† 28 Std.	Kulturen: Seuche
10.	21. Okt. 07	"	155 "	$\frac{1}{100}$ Mill. ccm ip.	† 36 "	"
11.	8. Nov. 07	"	175 "	$\frac{1}{1000}$ Mill. ccm ip.	lebt "	"
12.	12. Dez. 07	Steiß grün	195 "	$\frac{1}{1000000}$ ccm subk.	† 36 Std.	Kulturen: Seuche

IV. Ratten.

No.	Datum	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1.	9. Okt. 07	$\frac{1}{100}$ ccm intrath.	† 18 Std.	Kulturen: Seuche
2.		$\frac{1}{1000}$ ccm intrath.	† 18 "	
3.	11. Okt. 07	$\frac{1}{10000}$ ccm intrath.	lebt	anfangs krank, erholt sich wieder
4.	1. Nov. 07	"	"	—
5.		$\frac{1}{100000}$ ccm intrath.	"	—
6.	20. Sept. 07	$\frac{1}{100}$ ccm ip.	† 20 Std.	Kulturen: Seuche
7.	"	$\frac{1}{1000}$ ccm ip.	lebt	—
8.	24. Sept. 07	"	"	—
9.	26. Sept. 07	$\frac{1}{100}$ ccm subk.	"	—

V. Sperlinge.

No.	Datum	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1.	19. Dez. 06	$\frac{1}{100}$ ccm intram.	† 18 Std.	Kulturen: Seuche
2.	4. Juni 07	$\frac{1}{10000}$ ccm intram.	† 24 "	"
3.	6. Juni 07	$\frac{1}{100000}$ ccm intram.	† 24 "	"
4.	13. Juni 07	$\frac{1}{1000000}$ ccm intram.	† 24 "	"
5.	17. Juni 07	$\frac{1}{10}$ Mill. ccm intram.	† 24 "	"
6.	29. Okt. 07	$\frac{1}{100}$ Mill. ccm intram.	† 23 "	"
7.	8. Nov. 07	$\frac{1}{1000}$ Mill. ccm intram.	† 18 "	"

Literatur.

- Schmidt, Wochenschr. f. Tierheilk. 1868. p. 269.
- Perroncito, Ueber das epizootische Typhoid der Hühner. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 1879. p. 22.)
- Stöhr, Enzootische Lungen- und Brustfellentzündung bei Lämmern. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 1885. p. 230.)
- , Pneumonia contagiosa bei jungen Kälbern. (Ibid. p. 232.)
- Poels, Septische Pleuropneumonie der Kälber. (Fortschr. d. Med. 1886.)
- , 1. Untersuchungen über Kälberpneumonie. 2. Septische Pleuropneumonie der Kälber. 3. Amtliche Berichte über die in der Tierarzneischule zu Utrecht angestellten Versuche. (Holländischer Veterinärber. 1887.)
- Stöhr, Infektiöse Pneumonie bei Kälbern. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 1887. p. 360.)
- Semmer, Ueber die Kälber- und Lämmerpneumonie und die Mikroorganismen bei derselben. (Zeitschr. f. Tiermed. Bd. XIV. 1888. p. 242.)
- Seiffert, Infektiöse Pneumonie bei Kälbern. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 1889. p. 134.)
- Jensen, Ueber eine der Rinderseuche ähnliche Krankheit der Kälber. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. 1890.)
- Bongartz, Ueber eine der Wild- und Rinderseuche ähnliche Krankheit. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1892. No. 45.)
- Arndt, Eine seuchenartige Lungenentzündung bei Schafen. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. XX. 1894. p. 337.)

- 13) Pusch, Ueber eine ansteckende Pleuropneumonie der Ziegen. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1891. p. 403.)
- 14) Holzendorf, Lungenbrustfellentzündung bei Ziegen. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXII. 1896. p. 346.)
- 15) Mehndorf, Lungenbrustfellentzündung der Kälber. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXII. 1896. p. 345.)
- 16) Wulf, Ansteckende Lungenentzündung der Ziegen. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXII. 1896. p. 346.)
- 17) Storch, Die Pleuropneumonie der Ziegen. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1896. No. 48.)
- 18) Schick, Infektiöse Pneumonie der Kälber. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXIV. 1898.)
- 19) Vogdt u. Sepmeyer, Lungenbrustfellentzündung bei Schafen. (Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXIV. 1898.)
- 20) Poels, Rapport über enzootisches Kälbersterben in den Niederlanden. Erstattet im Auftrag Sr. Exz. des Ministers. 1899.
- 21) Nocard, Eine neue „Pasteurella“. Die „White scour“ und „Lung disease“ der Kälber in Irland. (Bull. de la soc. centr. de méd. vét. und Ann. de méd. vét. und Americ. Review. Ref. Berl. tierärztl. Wochenschr. 1901. p. 696.)
- 22) Schmidt, Septische Lungenentzündung bei Kälbern. (Maanedsskrift for Drylaeger. Bd. XIII. Ref. Berl. tierärztl. Wochenschr. 1901. p. 757.)
- 23) Marder, Ueber die infektiöse Kälberpneumonie. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1902. p. 110.)
- 24) Mettam, Bericht über die weiße Ruhr und die Lungenentzündung bei Kälbern. (The Veterinarian. Vol. LXXV. Ref. Berl. tierärztl. Wochenschr. 1902. p. 307.)
- 25) David u. Gutzeit, Veröffentlichungen aus den Jahresveterinärberichten der beamteten Tierärzte Preußens. 1902. 2. Teil. p. 15/16.
- 26) Evers, Pneumopleuritis vitulorum infectiosa. Beitrag zur Kenntnis der septischen Kälberpneumonie. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1903. p. 277.)
- 27) Müller, Veröffentlichungen aus den Jahresveterinärberichten der beamteten Tierärzte Preußens. 1903. 2. Teil. p. 10/11.
- 28) Eberhard, Erfahrungen mit Septicidin B bei der septischen Pleuropneumonie der Kälber. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1905. p. 677.)
- 29) Schreiber, Die septische Pneumonie der Kälber. (Monatsh. f. prakt. Tierheilk. Bd. XVIII. 1907.)

Immunisierungsversuche gegen die infektiöse Lungenbrustfellentzündung der Kälber mit Hilfe „agressiver“ Exsudate nach Bail, mit Bakterienextrakten nach Wassermann und Citron.

Die zuerst von Kruse beschriebenen und Lysine benannten, gegen die Körperschutzkräfte gerichteten Ausscheidungsprodukte pathogener Bakterien, gaben Bail die Grundlage zu seiner viel umstrittenen Lehre von den Aggressinen. Es ist das unbestrittene Verdienst Bails, in seinen grundlegenden Arbeiten über Milzbrand, Typhus, Cholera und in jüngster Zeit auch über Tuberkulose diese hypothetische Anschauung Kruses über das Vorhandensein jener von den Bakterien stammenden Stoffe als erster experimentell auf eine feste Grundlage gestellt zu haben. Von seinen Mitarbeitern Weil, Kikuchi, Hoke und Salus wurden analoge Versuche mit Hühnercholera, Dysenterie, Pneumokokken, mit Diplo- und Staphylokokken, sowie mit dem Bakterium coli angereicht, und auch für diese wurde der Nachweis für die Richtigkeit der Bailschen Angaben erbracht.

Das Wesentlichste in der Bailschen Aggressintheorie liegt im folgenden begründet: Die Bakterien vermögen im Tierkörper Stoffe zu erzeugen, welche die spezifischen Schutzkräfte des Körpers, nach Bail die Leukocyten, lahmlegen. Diese wirksamen Stoffe nennt Bail im Sinne Kruses Aggressine. Die wichtigste Eigenschaft dieser Aggressine besteht in negativer Chemotaxis. Wolff-Eisner zitiert den Vorgang nach der Bailschen Auffassung folgendermaßen: „Die Schutzkräfte des

Körpers gegenüber Bakterien bestehen in einer Leukocytose (positive Chemotaxis). Die Aggressine der Bakterien neutralisieren die Schutzkräfte und diese Neutralisierung tritt äußerlich als negative Chemotaxis in die Erscheinung. Hierdurch werden die Leukocyten an der Phagocytose und vor allem an der Neutralisation der Bakteriengifte gehindert“.

Dieser Fortfall des leukocytären Schutzapparates gibt eine ungehinderte Vermehrung der Bakterien Raum, die von Bail als Aggressivität bezeichnet wird, und die in direktem Abhängigkeitsverhältnisse von der Aggressinproduktion stehen soll.

Als Beweis für das Vorhandensein dieser eigenartigen neuen Stoffe führt Bail folgende Grundeigenschaften derselben an:

1) Untertödliche Mengen eines Bakteriums werden durch die Aggressine zu tödlichen gemacht; letztere sind weder infektiös noch giftig.

2) Die gleichzeitige Einspritzung von Aggressin und Bacillen gestaltet den Infektionsverlauf schwerer und hebt die Schutzwirkung bakteriolytischer Sera auf.

3) Die Vorbehandlung mit Körperexsudaten, die von lebenden Keimen befreit sind, erzeugt eine aktive Immunität.

4) Im Serum der nach Bails Angaben immunisierter Tiere lassen sich spezifische, schützende Stoffe, sogen. Antiaggressine nachweisen.

Nach der Fähigkeit der Bakterien Aggressine zu produzieren, teilt Bail die Bakterien in drei große Gruppen:

1) Eigentliche Parasitenbakterien mit Aggressivität in der höchsten Potenz.

2) Halbparasitenbakterien, die erst in größerer Menge genug Aggressivität aufbringen, um die Schutzkräfte des betreffenden Organismus zu neutralisieren.

3) Saprophytenbakterien ohne irgendwelche Aggressivität.

Nach Bail ist zur Auffindung der Aggressine der Ort maßgebend, wo der infizierende Organismus den infizierten zu überwinden sucht. So konnte Bail das Aggressin beim Milzbrand nach subkutaner Injektion in dem Oedem auffinden, welches an der Injektionsstelle entsteht; ferner bei der Geflügelcholera in dem Infiltrat, welches sich bei subkutaner Verimpfung an der Impfstelle ansammelt.

Die auf diese Weise gewonnenen Aggressine waren quantitativ zu gering, so daß die Injektion beim Kaninchen intrapleural und beim Meerschweinchen intraperitoneal ausgeführt wurde, um größere Mengen der aggressiven Flüssigkeiten zu erhalten.

Unsere bisher üblichen Anschauungen über das Wesen der Immunität, über das Zusammenwirken der Immunkörper mit dem Komplement zur Auflösung der Bakterien und die sich hieraus resultierende praktische Konsequenz hinsichtlich der Herstellung wirksamer Sera überhaupt, werden durch die experimentellen Grundlagen Bails und seiner Mitarbeiter in Frage gestellt.

Nicht Bakterienauflösung, sondern Schädigung der natürlichen Resistenz durch die Aggressine weisen die Immunitätsforschung in neue Bahnen, denn unsere Waffen müßten von nun an gegen diese Schädlinge der normalen Schutzvorrichtungen des lebenden Körpers und nicht gegen die Bakterien selbst gerichtet sein.

Das Wesen der Bakterienaggressivität und die Art der aggressiven Wirkung lassen den Streit zwischen Bail und seinen Gegnern heftig entbrennen. Während Bail in seinen Aggressinen Stoffe sieht, die nur im Tierkörper von den Bakterien, etwa analog dem Toxin, sezerniert

werden und diesen jene aggressiven und immunisatorischen Fähigkeiten zukommen, haben seine Gegner Wassermann und Citron jene neuen Stoffe in vitro mit den verschiedenlichsten Extraktionsmitteln aus den Bakterien hergestellt. Nach diesen Forschern kommt den Bailschen Aggressinen irgendwelches Abhängigkeitsverhältnis vom lebenden Organismus nicht im entferntesten zu. Nicht neue Stoffe stellen sie dar, sondern in den Bakterienleibern präformierte Substanzen, die schon seit langer Zeit von vielen Forschern zu antikörperauslösenden Zwecken benutzt worden sind. Die infektionsbefördernde Wirkung der Bailschen Aggressine sei nichts anderes, als die Bindung der natürlichen Schutzkräfte des Organismus durch die gleichzeitig injizierten Leibessubstanzen der betreffenden Infektionserreger. Die Schutzwirkung bakteriolytischer Sera durch Einspritzen von Aggressin aufzuheben, welche Eigenschaft auch den künstlichen Aggressinen zukomme, erkläre sich durch die Vereinigung des Ambozeptors mit den Bakteriensubstanzen und der daraus resultierenden Bindung des Komplementes in vivo. Citron stellt die Tatsache fest, daß die künstlichen Aggressine mit den natürlichen Bails in ihrer praktischen Wirkung auf den tierischen Organismus bei allen untersuchten Infektionen übereinstimmen. „Irgendwelche prinzipielle oder generelle Unterschiede zwischen beiden gäbe es nicht“. Auch seine künstlichen Aggressine machen eine untödtliche Menge eines Bakteriums zu einer tödtlichen und die Immunisierungserfolge seien die gleichen. Die Aggressinimmunität gegen Ganzparasiten sei ein ausschlaggebender Faktor für den Aggressingehalt seiner Bakterienextrakte, mit denen nunmehr auch Immunitätserfolge gegen Hühnercholera aufzuweisen wären.

Da es mir bei der außerordentlichen Pathogenität des Erregers der infektiösen Lungenbrustfellentzündung der Kälber unseren gebräuchlichsten Versuchstieren gegenüber niemals gelang, dieselben aktiv zu immunisieren, so machte ich mir die Aggressintheorie zunutze und habe, wie es schon für eine Reihe von Erregern anderer übertragbarer Krankheiten geschehen ist, versucht, die vielseitigen Anschauungen und Erfolge in kleinerem Maßstabe auch für dieses Bakterium zu erproben, um eventuell die praktische Bedeutung etwaiger zufriedenstellender Resultate bei der Herstellung wirksamer Sera gegen diese immer fühlbarere Plage in den landwirtschaftlichen Betrieben in Anwendung zu bringen.

Darstellung der natürlichen Aggressine Bails und der künstlichen Bakterienextrakte Wassermanns und Citrons zur Verwendung für die angestellten Immunisierungsversuche.

Meerschweinchen, nur von diesen Tieren wurde das zu meinen Versuchen notwendige Exsudat entnommen, erhielten 24-stündige Bouillonkulturen in einer Verdünnung von $\frac{1}{100}$ bis $\frac{1}{10}$ Mill. ccm ip., um gleichzeitig ein etwaiges Abhängigkeitsverhältnis der Exsudatmengen von der Dosierung und dem Verlaufe der Infektion festzustellen.

Irgendwelche Gesetzmäßigkeit in dieser Beziehung hat sich bei der ziemlich beträchtlichen Anzahl der von mir infizierten Tiere niemals ergeben. Im allgemeinen war die Ausbeute an Exsudat bei möglichst kurzem Infektionsverlaufe (nicht über 24 Stunden) die größte, doch lassen sich auch hierüber durchaus keine Normen aufstellen. In manchen Fällen erhielt ich auch bei etwas verspätetem Tode eine gute Ausbeute. Der größte Gewinn an Peritonealexsudat betrug bei einem 524 g schweren Meerschweinchen 16 ccm bei einer Infektionsdosis von $\frac{1}{100}$ ccm 24-stündiger

Bouillonkultur und Eintritt des Todes nach 20 Stunden. Ein mit gleicher Dosis infiziertes Meerschweinchen, 506 g schwer, ergab bei gleichem Infektionsverlaufe dagegen kaum 1 ccm Exsudat. Unter den gleichen Bedingungen lieferte ein 520 g schweres Meerschweinchen 9 ccm Exsudat und die gleiche Menge erhielt ich von einem 220 g schweren Tier, das nach 18 Stunden an einer Infektion von $\frac{1}{1000000}$ ccm Bouillonkultur starb. Die durchschnittliche Ausbeute betrug etwa 3–5 ccm eines rötlichen, graurötlichen bis gelbgrauen, mehr oder weniger trüben Exsudates. Steril entnommen wurde es sofort mit 5 Proz. einer 10-proz. Karbolglycerinlösung versetzt, bei Lichtabschluß und Zimmertemperatur 30 Stunden kräftig geschüttelt, klar zentrifugiert (3–5 Stunden bei 2000 Umdrehungen in der Minute) filtriert und 3 Stunden lang bei 44° C. im Thermostaten erhitzt. Durch Anlage einiger Bouillon- und Agarkulturen, die 3mal 24 Stunden im Brutofen bei 37° C. verblieben, wurde die Sterilität der Exsudate nachgewiesen.

Das Verfahren zur Herstellung der künstlichen Bakterienextrakte nach Wassermann und Citron war folgendes: 24-stündige, üppig gewachsene Agarkulturen, wurden mit je 8–10 ccm destilliertem Wasser resp. mit der gleichen Menge normalen Pferdeserums abgeschwemmt. Die so erhaltenen Abschwemmungen erfuhren die gleiche Behandlung wie die aus den Meerschweinchen gewonnenen Exsudate.

I. Immunisierungsversuche mit Hilfe der sterilen Exsudate.

1. Versuch.

Meerschweinchen, Gewicht 710 g.

9. Juli	710 g	0,5 ccm Exsudat subk.
19. Juli	780 "	1,0 " "
29. Juli	750 "	2,0 " "
9. Aug.	800 "	2,0 " "
21. Aug.	850 "	2,0 " "

Entblutet am 5. Sept. 07.

Antiangressin I.

Prüfung des Antiagressin I an Meerschweinchen.

Datum	Tierart	Natürl. Antiagr. Kpn. 13 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
10./11. Sept.	Mn. 270 g	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip.	Nacht vom 11. zum 12.	Kulturen: Seuche
	" 260 "	1,0 ccm subk.	"	8 $\frac{1}{4}$ Tage	"
	" 280 "	0,5 " "	"	1 $\frac{3}{4}$ "	"
	" 250 "	0,3 " "	"	Nacht vom 11. zum 12.	"
	" 260 "	0,1 " "	"		"

2. an grauen Mäusen.

Datum	Kennzeichen	Natürl. Antiagr. Kpn. 13 subc.	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
17./18. Sept.	o. Z.	0,75 ccm subk.	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 subk.	lebt	—
	l. O.	0,5 " "	"	"	—
	r. O.	0,3 " "	"	"	—
	bde. O.	0,1 " "	"	"	—
	S. l. O.	0,05 " "	"	"	—
	S. r. O.	0,01 " "	"	a) + 3 $\frac{3}{4}$ Tage	Kulturen: Seuche
	Schwz.	— " "	"	b) + 12 " "	"
	"	— " "	"	+ 23 Std.	"
	"	— " "	"	+ 27 "	"

3. an Kaninchen.

Datum	Tierart	Natürl. Antiagr. Kpn. 13 subk.	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
22./23. Okt.	Kn. 1800 g	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 subk.	† 19 Std.	Kulturen: Seuche
	" " "	2,0 ccm subk.	"	† 6 Tage	"
	" 1900 "	1,0 " "	"	† 2 $\frac{3}{4}$ "	"

Die Infektionsdosis bei den Meerschweinchen stellt die 100 000-fache, die bei den Kaninchen und Mäusen die 1000-fache tödliche Dosis dar. Die Wirkung der Antikörper äußert sich in einer 6—8-fachen Verlängerung des Schutzes gegenüber den Kontrolltieren. Der erreichte Impfschutz an den Mäusen ist ein bedeutend auffallenderer.

2. Versuch.

Meerschweinchen, Gewicht 730 g.

21. Aug. 730 g 2,0 ccm Exsudat subk.

14. Sept. 720 " 2,0 " " "

21. Sept. 720 " 2,0 " " "

Entblutet am 3. Okt. 07 (720 g).

Antiangressin II.

Prüfung desselben an Meerschweinchen.

Datum	Tierart	Natürl. Antiagr. Kpn. 13 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
14./15. Okt.	Mn. 210 g	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip.	† 17 Std.	Kulturen: Seuche
	" 240 "	2,0 ccm subk.	"	† 10 Tage	"
	" 240 "	1,0 " "	"	† 7 $\frac{1}{2}$ "	"
	" 230 "	0,5 " "	"	† 2 $\frac{1}{2}$ "	"
	" 220 "	0,3 " "	"	† 1 $\frac{1}{2}$ "	"
	" 210 "	—	$\frac{1}{10000}$ Kpn. 13 ip. + 0,5 natürl. Aggr. Kpn. 13 ip.	† 12 Std.	"

Der erreichte Impfschutz ist ein größerer als in dem entsprechenden ersten Versuche, trotzdem zur Antiaggressingewinnung zwei Injektionen

3. Versuch.

Meerschweinchen, Gewicht 690 g.

21. Aug. 690 g 1,0 ccm Exsudat subk.

14. Sept. 750 " 2,0 " " "

21. " 770 " 2,0 " " "

28. " 790 " 2,0 " " "

Entblutet am 12. Okt. 07.

Antiangressin III.

Prüfung an Meerschweinchen.

Datum	Tierart	Natürl. Antiagr. Kpn. 13 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
17./18. Okt.	Mn. 190 g	—	$\frac{1}{10000}$ Kpn. 13 ip.	† 19 Std.	Kulturen: Seuche
	" 200 "	2,0 ccm subk.	"	} bleiben leben	—
	" 220 "	1,0 " "	"		—
	" 200 "	0,5 " "	"	† 2 Tage	Kulturen: Seuche
	" 200 "	0,3 " "	"	† 1 $\frac{1}{2}$ Tage	"

weniger gemacht wurden. Durch die gleichzeitige Verabreichung von Bakterien und Aggressin bei Tier No. 6 und dessen beschleunigtem Tode gegenüber der Kontrolle No. 1 wird die aggressive Wirkung des Exsudates dargetan.

Gegen die 10000-fach tödliche Dosis gelingt es, die beiden Meer-schweinchen mit den höchsten Serumdosen dauernd am Leben zu erhalten.

4. Versuch.

Meerschweinchen, Gewicht 820 g.

28. Juni 820 g 0,5 ccm Exsudat subk.

5. Juli 840 " 1,0 " " "

13. " 820 " 2,0 " " "

22. " 848 " 2,0 " " "

29. " 750 " 2,0 " " "

Entblutet am 13. Aug. 07 (810 g).

Antiaggressin IV.

Die immunisierende Wirkung des Antiaggressin IV auf Meerschweinchen ergab nur eine Erhöhung der Widerstandskraft von 24 Std. gegenüber den Kontrolltieren. Die Prüfung an grauen Mäusen gestaltete sich folgendermaßen:

Datum	Kennzeichen	Natürl. Antiagr. Kpn. 13 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
17./18. Sept.	Schwz.	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 subk.	† 27 Std.	Kulturen: Seuche
	o. Z.	0,75 ccm subk.	"	} bleiben leben a) † 10 Tage b) lebt a) † $4\frac{3}{4}$ " b) † $12\frac{1}{4}$ " a) u. b) † $3\frac{3}{4}$ T. † 23 Std.	—
	l. O.	0,5 " "	"		—
	r. O.	0,3 " "	"		—
	bde. O.	0,1 " "	"		Kulturen: Seuche
	S. l. O.	0,05 " "	"		—
	S. r. O.	0,01 " "	"		Kulturen: Seuche
	Schwz.	—	"		"

5. Versuch.

Meerschweinchen, Gewicht 770 g.

22. Juli 770 g 0,5 ccm Exsudat ip.

29. " 650 " 1,0 " " "

9. Aug. 670 " 2,0 " " "

21. " 600 " 2,0 " " "

13. Sept. 720 " 2,0 " " "

Entblutet am 25. Sept. 07 (700 g).

Antiaggressin V.

Prüfung an Meerschweinchen.

Datum	Tierart	Natürl. Antiagr. Immunisierung auf ip. Wege, 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
1./2. Okt.	Mn. 240 g	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip.	† 18 Std.	Kulturen: Seuche
	" 200 "	2,0 ccm subk.	"	† 13 Tage	"
	" 220 "	1,0 " "	"	† 10 "	"
	" 220 "	0,5 " "	"	† 36 Std.	"
	" 220 "	0,3 " "	"	† 27 "	"
	" 240 "	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip. + 1,0 ccm natürl. Aggr. Kpn. 13 ip.	morgens um 7 Uhr tot aufgefunden ca. 12 Std.	"

Durch intraperitoneale Verimpfung der sterilen Exsudate war es nicht möglich, ein Antiaggressin von höherem Schutzwerte zu erzielen, doch ist immerhin der erlangte passive Schutz bei Tier No. 2 und 3 gegenüber der 100000-fach tödlichen Infektionsdosis nicht unbedeutend. Tier No. 6 veranschaulicht die infektiösbefördernde Wirkung des Aggressins, die bei der außerordentlichen Virulenz des Stammes Kpn. 13 eine beachtenswerte Differenz in dem Eintritt des Todes ergibt.

Zur Herstellung der sterilen Exsudate für die Immunisierungsversuche 1—5 wurde der Stamm Kpn. 13, für die folgenden der Stamm Kpn. 256 benutzt.

6. Versuch.

Kaninchen, Gewicht 2170 g.

24. Okt. 2170 g 2,0 ccm Exsudat subk.
 30. „ 2170 „ 3,0 „ „ „
 5. Nov. 2150 „ 2,0 „ „ „
 Entblutet am 18. Nov. 07 (2250 g). „
 Antiaggressin VI.

Prüfung an Meerschweinchen.

Datum	Tierart	Natürl. Antiaggr. Kpn. 256 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
18./19. Nov.	Mn. 250 g	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 ip.	† 3 Tage	Kulturen: Seuche
	„ 240 „	2,0 ccm subk.	„	} bleiben am Leben † Nacht vom 22. zum 23. † 2 1/4 Tage	—
	„ 240 „	1,0 „ „	„		—
	„ 240 „	0,5 „ „	„		—
	„ 220 „	0,3 „ „	„		Kulturen: Seuche
	„ 240 „	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 ip. + 0,5 natürl. Aggr. Kpn. 256 ip.	† 2 1/4 Tage	„

Die am Leben gebliebenen Meerschweinchen No. 2—4 erhielten am 5. Dez. die zweite Infektion von $\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 ip. Aktiver Schutz war nicht eingetreten.

Prüfung an Kaninchen.

Datum	Tierart	Natürl. Antiaggr. Kpn. 256 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
21./22. Nov.	Kn. 920 g	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 subk.	† 16 Std.	Kulturen: Seuche
	„ 900 „	2,0 ccm subk.	„	lebt	—
	„ 770 „	1,0 „ „	„	† 10 1/2 Tage	Kulturen: Seuche
	„ 770 „	0,5 „ „	„	lebt	—
	„ 750 „	0,3 „ „	„	† 28 Std.	Kulturen: Seuche
	„ 750 „	—	$\frac{1}{10}$ Mill. Kpn. 256 subk.	† 18 „	„

Der Tod des Serumtieres No. 3 erfolgte außerhalb der Reihenfolge nach 10 1/2 Tagen. Tier No. 2 und 4 wurden nach 19 Tagen zum zweiten Male infiziert und zwar mit der gleichen Infektionsdosis von $\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 ip. Beide Tiere blieben am Leben. Die Kontrolle starb nach 27 Stunden.

Die Wertbemessung des Antiaggressin VI an weißen Mäusen verlief ergebnislos, da der Tod der Tiere unregelmäßig, außerhalb der Reihe, erfolgte. Die mittlere Dosis von 0,3 ccm schützte Maus a) bis zum 9., Maus b) bis zum 12. Tage.

7. Versuch.

Meerschweinchen, Gewicht 870 g.

24. Okt.	870 g	2,0 ccm Exsudat subk.
30. "	850 "	2,0 " " "
5. Nov.	850 "	2,0 " " "
11. "	850 "	2,0 " " "

Serumentnahme am 25. Nov. 07 (835 g.)

Antiaggressin VII.

Prüfung des Antiaggressin VII.

1) an Meerschweinchen.

Datum	Tierart	Natürl. Antiaggr. Kpn. 256 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
25./26. Nov.	Mn. 270 g	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 ip.	+ Nacht vom 27. zum 28.	Kulturen: Seuche
	" 250 "	2,0 ccm subk.	"	} bleiben am Leben	—
	" 250 "	1,0 " "	"		—
	" 250 "	0,5 " "	"		—
	" 250 "	0,3 " "	"		—
	" 250 "	0,1 " "	"	+ Nacht vom 6. zum 7. Dez.	Kulturen: Seuche
				+ Nacht vom 1. zum 2. Dez.	"

Meerschweinchen No. 6, mit einer Serumdosis von 0,1 ccm, überlebt das Kontrolltier um 3 Tage. No. 5 mit einer Dosis von 0,5 ccm zeigt eine Resistenzverlängerung von 8 Tagen, während die übrigen Tiere am Leben bleiben. Nach 15 Tagen werden dieselben erneut infiziert. Aktive Immunität war eingetreten, denn alle Meerschweinchen überstanden die zweite Infektion. Kontrolle hierzu im Versuch 8.

2) an Kaninchen.

Datum	Tierart	Natürl. Antiaggr. Kpn. 256 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
25./26. Nov.	Kn. 1070 g	—	$\frac{1}{1000000}$ subk. Kpn. 256	+ Nacht vom 26. z. 27. Nov.	Kulturen: Seuche
	" 850 "	2,0 ccm subk.	"	ca. 15 Std.	
	" 970 "	1,0 " "	"	+ 9 $\frac{1}{4}$ Tage	"
	" 870 "	0,5 " "	"	+ 6 $\frac{1}{2}$ "	"
	" 1000 "	—	"	+ 6 "	"
			dieselbe	+ Nacht vom 26. z. 27. Nov.	"
			+ 0,5 Aggr. 256 subk.	ca. 12 Std.	

Das aus einem Meerschweinchen gewonnene Antiaggressin 7 verleiht der fremden Tierart keinen dauernden Schutz. Das homologe Serum immunisiert besser als das körperfremde.

8. Versuch.

Kaninchen, Gewicht 2350 g.

24. Okt.	2350 g	2,0 ccm Exsudat subk.
30. "	2170 "	1,0 " " "
5. Nov.	2200 "	2,0 " " "
11. "	2270 "	2,0 " " "
17. "	2390 "	2,0 " " "

Entblutet am 4. Dez. 07 (2570 g.)

Antiaggressin VIII.

Prüfung an Kaninchen.

Datum	Tierart	Natürl. Antiaggr. Kpn. 256 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
4./5. Dez.	Kn. 950 g	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 subk.	+ 15 Std.	Kulturen: Seuche
	" 940 "	2,0 ccm	"	lebt	—
	" 920 "	1,0 "	"	+ 3 $\frac{3}{4}$ Tage	Kulturen: Seuche
	" 870 "	0,5 "	"	+ 25 Std.	"
	" 840 "	0,3 "	"	+ 17 "	"
	" 770 "	0,1 "	"	+ 16 $\frac{1}{2}$ Std.	"
	" 870 "	—	dieselbe + 0,5 natl. Aggr. 256 subk.	+ 16 "	"

Prüfung an Meerschweinchen.

Versuch a).

4./5. Dez.	Mn. 290 g	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 ip.	+ Nacht vom 6. zum 7. Dez.	Kulturen: Seuche
	" 290 "	2,0 ccm	"	lebt	—
	" 290 "	1,0 "	"	lebt	"
	" 290 "	0,5 "	"	+ 2 $\frac{3}{4}$ Tage	Kulturen: Seuche
	" 290 "	0,3 "	"	+ 25 Std.	"
	" 290 "	0,1 "	"	+ Nacht vom 8. zum 9. Dez.	"
	" 205 "	—	"	+ 45 Std.	"

Meerschweinchen No. 4 erliegt der Infektion vor den Kontrolltieren. Die angelegten Kulturen ergaben charakteristisches Seuchenwachstum. Die Infektionsdosis ist die 1000-fach tödliche.

Versuch b).

Datum	Tierart	Natürl. Antiaggr. Kpn. 256 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
10./11. Dez.	Mn. 250 g	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 ip.	+ Nacht vom 12. z. 13. Dez.	Kulturen: Seuche
	" 220 "	2,0 ccm	"	} bleiben leben	"
	" 220 "	1,0 "	"		
	" 200 "	0,5 "	"	+ Nacht vom 13. z. 14. Dez.	"
	" 190 "	0,3 "	"	+ 23 $\frac{1}{2}$ Std.	"
	" 230 "	—	dieselbe + 0,5 natl. Aggr. 256 ip.		

Versuch c).

5./6. Dez.	Mn. 230 g	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 ip.	+ 19 $\frac{1}{2}$ Std.	Kulturen: Seuche
	" 230 "	2,0 ccm	"	+ Nacht vom 7. zum 8. Dez.	"
	" 220 "	1,0 "	"	+ 20 Std.	"
	" 220 "	0,5 "	"	+ 22 "	"
	" 220 "	0,3 "	"	+ 22 "	"
	" 240 "	—	dieselbe + 0,5 wäss. Bakt.-Extr. Kpn. 13 ip.	+ Nacht vom 6. zum 7. Dez.	"

Versuch d).

5./6. Dez.	Mn. 240 g	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 18 ip.	+ Nacht vom 7. zum 8. Dez.	Kulturen: Seuche
	" 190 "	2,0 ccm	"	+ 2 Tage	"
	" 190 "	1,0 "	"	} tot in der Nacht vom 7. z. 8. Dez.	"
	" 190 "	0,5 "	"		
	" 190 "	0,3 "	"		
	" 200 "	—	dieselbe + 0,5 wäss. Bakt.-Extr. Kpn. 18 ip.		

Versuch a) bis d) zeigt die verschiedene Wirkung des Antiaggressins 8 gegen verschiedene Stämme. Das Immunserum beeinflusste in den Versuchen a) und b) bei verschieden hoher Infektion den homologen Stamm deutlich stark, während gegen den heterologen Stamm im Versuch c) fast jegliche Schutzwirkung fehlte. Auch im Versuch d) war nur gegen die höchste Serumdosis ganz unbedeutender Schutz vorhanden. Es zeigten sich also deutliche Stammesverschiedenheiten. Auch die von Wassermann und Citron für ihre Bakterienabschwemmungen in Anspruch genommene infektionsbefördernde Kraft konnte ich durch Meerschweinchen No. 6 in dem Versuche c) nachweisen. Trotz der schweren Infektion zeigte sich hier ein deutlicher Unterschied in der Lebensdauer gegenüber dem Kontrolltier No. 1. Im Versuche d) kam diese Differenz durch den gemeinsamen Tod mit der Kontrolle in der Nacht vom 7. zum 8. Dez. nicht zur Geltung.

II. Immunisierungsversuche mit Bakterienextrakten nach Wassermann und Citron.

9. Versuch.

Meerschweinchen, Gewicht 640 g.

1. Juni	640 g	0,15 ccm	wässrig. Bakt.-Extr. Kpn. 13 subk.		
13. "	630 "	0,5 "	" "	" "	" "
28. "	695 "	0,75 "	" "	" "	" "
9. Juli	630 "	1,0 "	" "	" "	" "
19. "	700 "	2,0 "	" "	" "	" "
27. "	690 "	2,0 "	" "	" "	" "
5. Aug.	730 "	2,0 "	" "	" "	" "

Entblutet am 17. Aug. 07 (730 g).

Antiaggressin IX.

Prüfung an Meerschweinchen.

Datum	Tierart	Künstl. Antiagr. Kpn. 13 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
18./19. Aug.	Mn. 250 g	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip.	+ Nacht vom 19. z. 20. Aug.	Kulturen: Seuche
	" 223 "	1,0 ccm	"	+ Nacht vom 20. z. 21. Aug.	
	" 220 "	0,5 "	"	ca. 36 Std.	"
	" 220 "	0,3 "	"	+ 5 $\frac{1}{4}$ Tage	"
	" 223 "	0,1 "	"	+ Nacht vom 19. z. 20. Aug.	"
	" 250 "	—	dieselbe + 0,3 wäss. B.E. Kpn. 13 subk.	+ 31 $\frac{1}{2}$ Std.	"
				+ Nacht vom 19. z. 20. Aug.	"

Die Serumprüfung an grauen Mäusen ist ebenso unregelmäßig, wie die an Meerschweinchen. Die Mäuse mit der Höchstdosis von 0,75 ccm und 0,1 ccm bleiben am Leben; alle übrigen Mäuse sind nach 6 $\frac{1}{4}$ Tagen tot.

10. Versuch.

Kaninchen, Gewicht 1870 g.

13. Juni	1870 g	0,15 ccm	wässrig. Bakt.-Extr. Kpn. 13 ip.		
28. "	2030 "	0,5 "	" "	" "	" "
9. Juli	1910 "	1,0 "	" "	" "	" "
19. "	2050 "	2,0 "	" "	" "	" "
27. "	2280 "	2,0 "	" "	" "	" "
5. Aug.	2500 "	2,0 "	" "	" "	" "

Entblutet am 17. Aug. 07 (2630 g).

Antiaggressin X.

Prüfungen an Meerschweinchen.

Datum	Tierart	Künstl. Antiaggr., Kpn. 13 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
18/19. Aug.	Mn. 250 g	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip.	+ 23 $\frac{1}{2}$ Std.	Seuche
	" 224 "	1,0 ccm	"	+ 7 Tage	"
	" 225 "	0,5 "	"	+ 25 $\frac{1}{2}$ Std.	"
	" 223 "	0,3 "	"	+ Nacht vom 20/21. Aug.	"
	" 223 "	0,1 "	"	+ Nacht vom 19/20. Aug.	"
24/25. Okt.	Mn. 300 g	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 ip.	+ 23 Std.	Seuche
	" 300 "	2,0 ccm	"	} bleiben am Leben	"
	" 350 "	1,0 "	"		"
	" 350 "	0,5 "	"	+ 21 Std.	"
	" 300 "	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 ip. + 0,5 wäss. B.E. Kpn. 13 ip.		"

Prüfung an Mäusen.

Datum	Kennzeichen	Künstl. Antiaggr., Kpn. 13 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
11/12. Sept.	Schwanz	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 subk.	+ 28 Std.	Kulturen: Seuche
	o. A.	1,0 ccm	"	+ 4 "	Tod. infolge Karbolvergiftung
	l. O.	0,5 "	"	} bleiben leben	—
	r. O.	0,3 "	"		—
	bde O.	0,1 "	"	+ 6 Tage	Kulturen: Seuche
	S. l. O.	0,05 "	"	a) + 2 $\frac{3}{4}$ "	"
	S. r. O.	0,01 "	"	b) + 3 $\frac{1}{4}$ "	"
	S. bde O.	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 subk. + 1,0 wäss. B.E. Kpn. 13 subk.	a) + 1 $\frac{3}{4}$ "	"
				b) + 2 $\frac{1}{4}$ "	"
				+ 1 $\frac{3}{4}$ "	"

Bei einer nochmaligen Prüfung des Antiaggressin X an grauen Hausmäusen starb von jeder Dosis eine Maus. Die übriggebliebenen Mäuse wurden nach 4 Wochen von neuem infiziert mit demselben Kulturstamm und derselben Dosis. Während die Kontrolltiere pünktlich sterben, überleben die Serummäuse die zweite Infektion wiederum und werden nach weiterer 14-tägiger Beobachtung gesund entlassen.

11. Versuch.

Meerschweinchen, Gewicht 650 g.

28. Juni 650 g 2,5 ccm wäss. Bakt.-Extr. Kpn. 18 subk.

9. Juli 590 " 2,0 " " " " "

19. " 640 " 2,0 " " " " "

27. " 640 " 2,0 " " " " "

Entblutet am 9. Aug. 07 (670 g).

Antiaggressin XI.

Schutzprüfung an Meerschweinchen.

Datum	Tierart	Künstl. Anti- aggr., Kpn. 18 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Be- merkungen
12/13. Aug.	Mn. 220 g	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 18 ip.	+ 23 Std.	Kulturen: Seuche
	" 220 "	1,0 ccm	"	lebt	—
	" 220 "	0,5 "	"	+ 12 Tage	Kulturen: Seuche
	" 220 "	0,1 "	"	+ 2 $\frac{3}{4}$ "	"
	" 230 "	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 18 ip. + 3,0 wäss. B.E. Kpn. 18 subk.	+ 24 $\frac{1}{2}$ Std.	"

Die gleichzeitige subkutane Verabreichung von 3 ccm wässrigen Bakterienextrakten mit der ip.-Infektionsdosis verzögerte den Tod des Tieres No. 5 um 1 $\frac{1}{2}$ Stunden. Dieselbe Beobachtung machte ich in dem folgenden Versuche, zu dessen Prüfung ein Meerschweinenserum verwandt wurde, das unter den gleichen Bedingungen wie das Anti-aggressin XI hergestellt worden war.

Datum	Tierart	Künstl. Anti- aggr., Kpn. 18 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Be- merkungen
12/13. Aug.	Mn. 240 g	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip.	+ 20 Std.	Seuche
	" 230 "	1,0 ccm	"	+ 6 $\frac{1}{4}$ Tage	"
	" 230 "	0,5 "	"	+ 44 Std.	"
	" 220 "	0,1 "	"	+ 22 "	"
	" 250 "	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip. + 3,0 wäss. B.E. Kpn. 13 subk.	+ 22 "	"

Das mit dem Stamme Kpn. 18 hergestellte Immunserum vermag gegen die Infektion mit dem Stamme Kpn. 13 nur das Meerschweinchen mit der größten Serumdosis einige Tage am Leben zu erhalten.

Schutzprüfung an grauen Mäusen.

Datum	Kennzeichen	Künstl. Anti- aggr., Kpn. 18 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Be- merkungen
11/12. Sept.	Schwanz	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 18 subk.	+ 1 $\frac{3}{4}$ Tage	Seuche
	o. A.	1,0 ccm	") bleiben leben	—
	l. O.	0,5 "	"		—
	r. O.	0,3 "	"	a) + 2 $\frac{3}{4}$ Tage b) lebt	—
	bde O.	0,1 "	"		—
	S. l. O.	0,05 "	"	a) + 1 $\frac{1}{4}$ Tage	Seuche
	S. r. O.	0,01 "	"	b) + 3 $\frac{1}{4}$ "	Seuche
	Schwanz	—	") + Nacht v. 13/14. Sept.	"
	S. bde O.	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 18 subk. + 0,5 wäss. B.E. Kpn. 18 subk.		"

12. Versuch.

Kaninchen, Gewicht 2850 g.

3. Mai	2850 g	0,05 ccm	wäss. Kulturextrakt Kpn. 256 subk.		
17. "	2750 "	0,1 "	" "	" "	" "
1. Juni	2690 "	0,5 "	" "	" "	" "
13. "	2770 "	0,75 "	" "	" "	" "
28. "	2700 "	1,0 "	" "	" "	" "
9. Juli	2540 "	2,0 "	" "	" "	" "
19. "	2550 "	3,0 "	" "	" "	" "
27. "	2730 "	1,0 "	" "	" "	" "

Serumentnahme am 9. Aug. 07 (2570 g).

Antiaggressin XII.

Schutzprüfung an Kaninchen.

Datum	Tierart	Künstl. Anti-aggr., Kpn. 256 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
15/16. Aug.	—	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 subk.	† 18 Std.	Kulturen: Seuche
	Kn. 740 g	2,0 ccm	"	} bleiben am Leben	—
	" 770 "	1,0 "	"		—
	" 790 "	0,5 "	"		—
	—	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 subk. + 3,0 wäss. B.E. Kpn. 256 subk.	† 22½ Std.	Kulturen: Seuche

Gegen die 1000-fach tödliche Dosis gelingt es alle Tiere zu schützen.

Prüfung an Meerschweinchen.

Datum	Tierart	Künstl. Anti-aggr., Kpn. 256 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
11/12. Sept.	Mn. 200 g	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 256 ip.	† 23 Std.	Kulturen: Seuche
	" 280 "	2,0 ccm	"	} bleiben am Leben	—
	" 280 "	1,0 "	"		—
	" 280 "	0,5 "	"		—
	" 280 "	0,3 "	"	† Nacht vom 12/13. Sept.	Kulturen: Seuche
	" 250 "	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 256 ip. + 1,0 wäss. B.E. Kpn. 256 ip.		

Der Schutz ist in diesem Falle ein außerordentlich hoher, indem die Resistenzsteigerung eine 100 000-fach tödliche Dosis verträgt.

13. Versuch.

Meerschweinchen, Gewicht 550 g.

7. Mai	550 g	0,05 ccm	wäss. Bakt.-Extr. Kpn. 256 subk.		
17. "	574 "	0,1 "	" "	" "	" "
1. Juni	590 "	0,5 "	" "	" "	" "
13. "	580 "	0,75 "	" "	" "	" "
28. "	610 "	1,0 "	" "	" "	" "
9. Juli	560 "	2,0 "	" "	" "	" "
19. "	610 "	2,0 "	" "	" "	" "
27. "	610 "	2,0 "	" "	" "	" "

Entblutet am 9. Aug. 07 (620 g).

Antiaggressin XIII.

Prüfung an Meerschweinchen.

Datum	Tierart	Künstl. Anti-aggr., Kpn. 256 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
16/17. Sept.	Mn. 290 g	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip.	+ 23 $\frac{1}{2}$ Std.	Kulturen: Seuche
	" 240 "	1,0 ccm	"	+ 20 "	"
	" 270 "	0,5 "	"	+ 21 "	"
	" 250 "	0,3 "	"	+ 36 "	"
	" 230 "	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip. + 0,5 wäss. B.E.	+ Nacht vom 17/18. Sept.	ca. 12 Std.
	" 290 "	—	Kpn. 13 ip. $\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip. + 1,0 wäss. B.E. Kpn. 13 ip.	+ 26 Std.	Seuche

Geprüft wurde gegen den heterologen Stamm Kpn. 13. Die Meerschweinchen, welche das meiste Serum bekommen hatten, starben einige Stunden vor den Kontrolltieren.

Prüfung an grauen Mäusen.

Datum	Kennzeichen	Künstl. Anti-aggr., Kpn. 256 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
13/14. Sept.	Schwanz	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 subk.	+ 22 $\frac{1}{2}$ Std.	Kulturen: Seuche
	o. A.	0,75 ccm	"	+ 1 $\frac{3}{4}$ Tage	"
	l. O.	0,5 "	"	+ 2 $\frac{1}{4}$ "	"
	r. O.	0,3 "	"	+ 4 $\frac{1}{4}$ "	"
	bde O.	0,1 "	"	a) + 3 "	"
	S. l. O.	0,05 "	"	b) + 3 $\frac{1}{4}$ "	"
	S. r. O.	0,01 "	"	a) + 5 "	"
	S. bde O.	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 subk. + 0,5 wäss. B.E. Kpn. 256 subk.	b) + 5 "	"
				a) + 9 "	"
				b) + 14 "	"
				+ 23 Std.	"

Auch hier war der Impfschutz bei den kleinsten Serumdosen der größte trotz Prüfung gegen den Stamm der Serumherstellung.

14. Versuch.

Meerschweinchen, Gewicht 850 g.

26. Sept. 850 g 2,0 ccm seröser Bakt.-Extr. Kpn. 13 subk.

4. Okt. 850 " 2,0 " " " " "

11. " 850 " 2,0 " " " " "

18. " 790 " 2,5 " " " " "

Entblutet am 2. Nov. 07 (870 g).

Antiaggressin XIV.

Prüfung an Meerschweinchen.

Datum	Tierart	Künstl. Antiaggr. Kpn. 13 subk. 24 Std. vorher	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
4.5. Nov. 07	Mn. 224 g	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 ip.	+ 21 Std.	Kulturen: Seuche
"	" 180 "	1,0 ccm	"	bleiben	
"	" 195 "	0,5 "	"	am	
"	" 195 "	0,3 "	"	Leben	
"	" 185 "	0,1 "	"	+ 37 Std.	"
"	" 200 "	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 ip. + 0,5 seröser B.E. Kpn. 13 ip.	+ 26 "	"

Zum Nachweise der Aggressinimmunität waren in den angeführten Versuchen zur Gewinnung der Antiaggressine 3—4 Injektionen nötig, um einigermaßen hohe Immunitätsgrade bei der passiven Immunisierung zu erzielen. In den folgenden Tabellen wurde daher festgestellt, wieviel Injektionen von natürlichem und künstlichem Aggressin überhaupt nötig sind, um einen aktiven Schutz der Versuchstiere zu erreichen.

15. Versuch.

Datum	Tierart	Kennzeichen	Aggressine Kpn. 13	Infektionsmenge	Verlauf	Be- merkungen
25. Nov. 07	Mn. 240 g 340 g	Stirn blau	0,5 ccm nat. Aggr.	9. Okt. 1907 $\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip.	† 21 Std.	Kulturen: Seuche
"	Mn. 240 g 340 g	Nacken blau	0,5 ccm wäss. B.E.		† 21 "	"
"	Mn. 240 g 340 g	Steiß blau	0,5 ccm seröse B.E.		† 24 "	"
"	Mn. 250 g 370 g	r. Vorderf. blau	0,5 ccm norm. Pferdeserum		† 21 "	"
25. Nov. 07	Mn. 280 g 350 g	Stirn grün	1,0 ccm nat. Aggr.	9. Okt. 1907 $\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip.	† in der Nacht	Kulturen: Seuche
"	Mn. 275 g 370 g	Nacken grün	1,0 ccm wäss. B.E.		vom 10. z. 11. Okt.	"
"	Mn. 270 g 350 g	Steiß grün	1,0 ccm seröse B.E.		† 19 Std.	"
"	Mn. 260 g 370 g	r. Vorderf. grün	1,0 ccm norm. Pferdeserum		† 19 "	"
9. Okt. 07	Mn. 370 g	ohne Zeichen	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip.	† 22 Std.	Kulturen: Seuche
"	Mn. 270 g	Stirn rot	—	$\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip.	† 15 "	"
"	Mn. 270 g	Nacken rot	—	+ 1,0 nat. Aggr. ip. $\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip.	† 17 "	"
"	Mn. 270 g	Steiß rot	—	+ 1,0 wäss. B.E. ip. $\frac{1}{1000}$ Kpn. 13 ip. + 1,0 seröse B.E. ip.	† 15½ "	"

Aktiver Schutz war weder bei Injektion von 0,5 ccm der verschiedensten Aggressine, noch bei einer solchen von 1,0 ccm eingetreten. Der Tod aller Tiere erfolgte ungefähr mit dem der Kontrolle. Die Meerschweinchen mit 1,0 ccm natürlichem Aggressin und 1,0 ccm wässerigem Bakterienextrakt zeigten eine geringgradige Resistenzhöhung gegenüber den Kontrolltieren.

Bei einmaliger subkutaner Injektion von 2,0 ccm Aggressinen und wesentlich geringerer Infektionsmenge blieb nur das Meerschweinchen mit den sterilen Exsudaten am Leben. Dasselbe wurde nach 16 Tagen mit der gleichen Infektionsmenge erneut infiziert, überlebte die zweite Infektion und erhielt 6 Tage später $\frac{1}{1000000}$ Kpn. 256 ip. Auch diese dritte Infektion wurde überwunden und das Tier nach weiterer 14-tägiger Beobachtungsdauer gesund entlassen. Die mit 3,0 ccm Aggressinen vorbehandelten Meerschweinchen überlebten mit Ausnahme desjenigen Tieres, welches die serösen Bakterienabschwemmungen erhalten hatte, dauernd die Infektion. Diejenigen Tiere, welche in einem Zeitraume von 7 Tagen 4,0 ccm Aggressine eingespritzt erhielten, blieben am Leben und hatten bei einer Beobachtungsdauer von 14 Tagen eine Gewichtszunahme bis zu 50 g zu verzeichnen. Aus äußeren Gründen unterblieb hier eine nochmalige Infektion.

Für alle diese Versuche wurden Aggressine verwandt, die mit dem Stamme Kpn. 13 hergestellt worden waren. Zur Infektion wurde in

jedem Falle der homologe Stamm benutzt. Von selbst warf sich daher die Frage auf, ob bei einer Vorbehandlung mit den Aggressinen des Stammes Kpn. 13 diese auch gegen eine Infektion mit heterologen Stämmen schützen würden; ob sich bei der aktiven Immunisierung ebenfalls Stammesverschiedenheiten herausstellen würden, wie ich sie bei der passiven Immunisierung im Versuche 8 festgestellt hatte.

Datum	Tierart	Kennzeichen	Aggressine	Infektionsmenge	Verlauf	Bemerkungen
11. Okt. 07	Mn. 220 g	Stirn grün	2,0 ccm nat. Aggr.	25. Okt. 1907 $\frac{1}{1000000}$ ccm Kpn. 13 ip.	bleibt leben	—
"	Mn. 200 g	Nacken grün	2,0 ccm wäss. B.E.		† Nacht vom 26. z. 27. Okt. † 38 Std.	Kulturen: Seuche
"	Mn. 200 g	Steiß grün	2,0 ccm seröse B.E.		† 38 Std.	"
25. "	Mn. 290 g	ohne Zeichen	—		† 23 "	"
11. Okt. 07	Mn. 250 g	Stirn blau	2,0 ccm nat. Aggr.	1. Nov. 1907 $\frac{1}{1000000}$ ccm Kpn. 13 ip.	bleiben am Leben	—
18. "	Mn.	"	1,0 ccm nat. Aggr.			—
11. "	Mn. 270 g	Nacken blau	2,0 ccm wäss. B.E.			—
18. "	Mn. 250 g	"	1,0 ccm wäss. B.E.			—
11. "	Mn. 270 g	Steiß blau	2,0 ccm seröse B.E.		† 35 Std.	Kulturen: Seuche
18. "	Mn. 250 g	"	1,0 ccm seröse B.E.			"
11. Okt. 07	Mn. 250 g	Stirn rot	2,0 ccm nat. Aggr.	1. Okt. 1907 $\frac{1}{1000000}$ ccm Kpn. 13 ip.	Bleiben am Leben	—
18. "	Mn. 290 g	"	"			—
11. "	Mn. 250 g	Nacken rot	2,0 ccm wäss. B.E.			—
18. "	Mn. 250 g	"	"			—
11. "	Mn. 250 g	Steiß rot	2,0 ccm seröse B.E.			—
18. "	Mn. 270 g	"	"			—
1. Nov. 07	Mn. 390 g	ohne Zeichen	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 ip.	† 36 Std.	Kulturen: Seuche
"	Mn. 350 g	Stirn grün	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 ip. + 0,5 wäss. B.E.	† 23½ "	"
"	Mn. 320 g	Nacken grün	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 ip. + 0,5 seröse B.E.	† 23 "	"
"	Mn. 370 g	Steiß grün	—	$\frac{1}{1000000}$ Kpn. 13 ip. + 0,5 nat. Aggr.	† 23½ "	"
1. Nov. 07	Mn. 220 g	Nacken rot	0,5 nat. Aggr. Kpn. 13 ip.	—	Bleiben am Leben	—
"	Mn. 250 g	Stirn rot	1,0 nat. Aggr. Kpn. 13 ip.	—		—
"	Mn. 200 g	Steiß rot	0,5 wäss. B.E. Kpn. 13 ip.	—		—
"	Mn. 200 g	r. Vorderf. rot	0,5 seröse B.E. Kpn. 13 ip.	—		—

Es ließ sich durch den Versuch 16 also feststellen, daß die durch die Aggressine des Stammes Kpn. 13 eingetretene aktive Immunität auch den heterologen Stämmen gegenüber Schutz gewährte, wenn auch

das mit den wässerigen Kulturextrakten behandelte Meerschweinchen dem Stamme Kpn. 256 gegenüber versagte.

16. Versuch.

Datum	Tierart	Kennzeichen	Aggres- sine	Infektions- menge	Verlauf	Be- merkungen
15. Nov. 07	Mn. 170 g	Stirn rot	2,0 ccm nat. Aggr.	5. Dez. 07	bleiben am Leben	—
21. "	Mn. 190 g	"	"	250 g $\frac{1}{1000000}$ ccm Kpn. 13		—
15. "	Mn. 170 g	Nacken rot	2,0 ccm wäss. B.E.	"		—
21. "	Mn. 200 g	"	"	250 g ip.		—
15. Nov. 07	Mn. 170 g	Stirn blau	2,0 ccm nat. Aggr.	5. Dez. 07	bleiben am Leben	—
21. "	Mn. 200 g	"	"	250 g $\frac{1}{1000000}$ ccm Kpn. 18		—
15. "	Mn. 180 g	Nacken blau	2,0 ccm wäss. B.E.	"		—
21. "	Mn. 200 g	"	"	270 g ip.		—
15. Nov. 07	Mn. 170 g	Stirn grün	2,0 ccm nat. Aggr.	5. Dez. 07	bleibt leben	—
21. "	Mn. 190 g	"	"	250 g $\frac{1}{1000000}$ ccm Kpn. 256		—
15. "	Mn. 170 g	Nacken grün	2,0 ccm wäss. B.E.	"		Kulturen: Seuche
21. "	Mn. 200 g	"	"	240 g ip.		† in der Nacht vom 6. z. 7. Dez.
5. Dez. 07	Mn. 280 g	Steiß rot	—	$\frac{1}{1000000}$ ccm Kpn. 13 ip.	† 15 Std.	Kulturen: Seuche
"	Mn. 280 g	Steiß blau	—	$\frac{1}{1000000}$ ccm Kpn. 18 ip.	† in der Nacht vom 6. z. 7. Dez.	"
"	Mn. 240 g	Steiß grün	—	$\frac{1}{1000000}$ ccm Kpn. 256 ip.		"

Ergebnisse.

1) Aus allen Versuchen geht unzweifelhaft hervor, daß es mit Hilfe steriler Meerschweinchenexsudate nach der Bailschen Methode, wie auch mit den wässerigen und serösen Kulturabschwemmungen des Erregers der septischen Pneumonie der Kälber nach den Angaben von Wassermann und Citron gelingt, Meerschweinchen und Kaninchen gegen diese Seuche aktiv zu immunisieren und das Serum so vorbehandelter Tiere zur passiven Immunisierung bei Kaninchen, Meerschweinchen und grauen Mäusen zu verwenden. Der erlangte Schutz ist teilweise ein dauernder und außerordentlich hoher.

2) Durch die gleichzeitige Injektion von Bakterien und Körperexsudaten, wie auch künstlichen Bakterienabschwemmungen ließ sich der Tod der Versuchstiere gegenüber den Kontrolltieren in der ausgesprochensten Weise beschleunigen.

3) Der Nachweis von Stammesverschiedenheiten wurde erbracht derart, daß es nicht gelang, mittels eines monovalenten Immunserums Schutz gegen beliebige andere Stämme zu erzielen. Bei eingetretener aktiver Immunität kamen diese Verschiedenheiten nicht zur Geltung.

Literatur.

- 1) Kruse, Zieglers Beitr. Bd. XII. 1893. p. 333.
- 2) Bail, O., Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. Heft 2 u. 3. p. 266 u. 397.)
- 3) Mayer, M., Weitere Versuche zur Darstellung spezifischer Substanzen aus Bakterien. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 2. p. 50.)
- 4) Mayer und Brieger, Zur Gewinnung spezifischer Substanzen aus Typhusbacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 27. p. 980.)
- 5) Bail, O., Untersuchungen über Typhus- und Choleraimmunität. (Arch. f. Hyg. Bd. LII. 1905.)
- 6) —, Untersuchungen über die Aggressivität des Choleravibrio. (Ibid. Bd. LIII.)
- 7) —, Ueber den Zusammenhang zwischen Aggressivität und Leibessubstanz von Bakterien. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 37. p. 1471.)
- 8) Citron, Julius, Ueber die Immunisierung mit Exsudaten und Bakterienextrakten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. p. 153.)
- 9) Citron und Wassermann, Zur Frage der Bildung von bakteriellen Angriffstoffen im lebenden Organismus. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 28. p. 1101.)
- 10) Hoke, Ueber die aggressive und immunisatorische Wirkung von Staphylokokkenexsudaten. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. L. 1905. p. 541.)
- 11) Kikuchi, Untersuchungen über den Shiga-Kruseschen Dysenteriebacillus. (Arch. f. Hyg. Bd. LII. 1905.)
- 12) Weil, Edmund, Untersuchungen über Infektion und Immunität bei Hühnercholera. (Arch. f. Hyg. Bd. LII. 1905.)
- 13) Salus, Das Aggressin des Colibakteriums. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 25.)
- 14) Bail und Weil, Unterschiede zwischen aggressiven Exsudaten und Bakterienextrakten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 3. p. 371.)
- 15) —, Bakterienaggressivität und Bakterienextrakte. (Ibid. Bd. XLII. 1906. p. 51, 139, 241, 335, 437 u. 546.)
- 16) Citron, Julius, Die Immunisierung gegen Schweineseuche mit Hilfe von Bakterienextrakten. Ein Beitrag zur Aggressinfrage. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LII. 1906. p. 238.)
- 17) —, Ueber natürliche und künstliche Aggressine. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 2. p. 230.)
- 18) Doerr, Ueber Aggressine. [Autoreferat.] (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1906. Beiheft. p. 14.)
- 19) Kraus, Rudolf, Die Fortschritte der Immunitätsforschung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1906. Beiheft. p. 9 u. 10.)
- 20) Weil, Ueber Aggressinimmunisierung von Schweinen gegen Schweineseuche. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. p. 121.)
- 21) Titze, Die Aggressinhypothese von Bail. [Sammelreferat.] (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. I. 1906. p. 233.)
- 22) Wolff-Eisner, Die Aggressinlehre. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1906. No. 21 u. 23. p. 641 u. 737.)
- 23) Citron, Jul. und Pütz, R., Ueber die Immunisierung gegen Hühnercholera, Wild- und Schweineseuche mit Bakterienextrakten. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LVI. 1907. Heft 1. p. 145.)
- 24) Wassermann und Citron, Ueber den Unterschied zwischen natürlichen und künstlichen Aggressinen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. Heft 4. p. 373.)

Prüfungen über Mono- oder Polyvalenz der Sera gegen die infektiöse Pneumonie der Kälber.

Die Ehrlich-Morgenroth'schen Bindungsversuche zwischen Ziegenblutkörperchen und spezifischen Immunkörpern, wonach die hämolytischen Immunkörper aus einzelnen Partialambozeptoren und demzufolge ihre Lieferanten, die Blutkörperchen selbst, aus einzelnen Partialrezeptoren bestehen sollten, haben die Partialtheorie des Protoplasmaleibes gezeitigt, die von vielen Forschern auch für eine verschiedenartige Gestaltung der Bakterienzelle und ihrer spezifischen Substanzen in Anspruch genommen wurde. So fand z. B. Wassermann die Einzel-

oder Partialagglutinine beim *Bacterium coli*, Wechsberg die Partialtoxine beim Staphylotoxin und andere Forscher für die verschiedensten Produkte des Bakterienleibes ähnliche Resultate. Auf diese grundlegenden Arbeiten gestützt, kamen Wassermann und Ostertag nach eingehenden Untersuchungen über das eigenartige Verhalten der Schweineseucheerreger und der damit hergestellten monovalenten Sera gegenüber Stämmen derselben Species, jedoch anderer Herkunft, zur Herstellung ihres polyvalenten Schweineseucheserums. In ihrer Arbeit über multipartiale Sera legten Wassermann und Ostertag ihren Standpunkt hinsichtlich einer aussichtsvollen Bekämpfung der immer weiter um sich greifenden Seuche mittels ihres polyvalenten Serums dar und ließen ihren Ausführungen experimentelle Tatsachen ihrer Mitarbeiter über diese Frage folgen. Bei allen diesen Untersuchungen fanden sich Stammverschiedenheiten des Schweineseucheerreger heraus, die in den feinsten biologischen Verhältnissen des Bakterienprotoplasmas begründet sein sollten. Für die antikörperauslösenden Substanzen der Bakterienzelle müssen hiernach bei den meisten Mikroorganismen individuell verschiedene Einzelteilchen angenommen werden. Diese Einzelkomponenten — Partikelteilchen — des Bakterienprotoplasmas produzieren beim Immunisierungsvorgange die Partialambozeptoren, die sich ihrerseits zum Ambozeptor im Serum summieren. Hierin liegt nach Wassermann und Ostertag die praktische Bedeutung und Nutzenanwendung ihres multipartialen Serums, da bei der großen Anzahl von Teilambozeptoren desselben viel eher die Möglichkeit gegeben ist, unter den biologisch differenten Stämmen der einzelnen Seuchenausbrüche passende, den Partialambozeptoren entsprechende Komponenten zu finden, als dies für ein monovalentes Serum der Fall ist, das nur auf einige ganz spezielle, dem zur Vorbehandlung herangezogenen Bakterienprotoplasma entsprechenden Teilrezeptoren angepaßt ist. Nach den Ehrlichschen Untersuchungen bestehen nun auch die zur Entfaltung der Wirkung eines Serums nötigen Komplemente im lebenden Organismus aus verschiedenen Einzelteilchen und käme somit dem multi-

Vergleichende Prüfungen der Sera „Gans“, „Jess-Piorkowski“, „Klett-Braun“ und „Landsberg“.

Infektionsmenge	Serummenge	„Gans“	„Jess-Piorkowski“	„Klett-Braun“	„Landsberg“
Stamm J. I. $\frac{1}{10000000}$ ccm subk.	0,0075	a) + 5 Tage b) + 8 „	a) + 3 Tage b) + 4 „	a) lebt b) + 8 Tage	a) + 6 Tage b) + 7 „
	0,01	a) + 8 „ b) + 10 „	a) + 2 „ b) + 3 „	a) + 3 „ b) + 5 „	a) + 8 „ b) + 9 „
	0,02	a) + 9 „ b) lebt	a) + 2 „ b) + 3 „	a) + 3 „ b) + 4 „	a) + 8 „ b) + 6 „
	Kontrollen: a) + 12 Std., b) + 36 Std.				
Stamm J. II. $\frac{1}{10000000}$ ccm subk.	0,0075	a) + 5 Tage b) + 9 „ c) + 3 „	a) + 24 Std. b) + 3 Tage c) + 3 „	a) + 24 Std. b) + 2 Tage c) + 5 „	a) + 8 Tage b) + 9 „ c) lebt
	0,01	a) + 2 „ b) + 4 „ c) + 9 „	a) + 2 „ b) + 3 „ c) + 3 „	a) + 2 „ b) + 3 „ c) + 3 „	a) + 6 Tage b) + 9 „ c) lebt
	0,02	a) + 4 „ b) + 6 „ c) + 3 „	a) + 3 „ b) + 3 „ c) + 3 „	a) + 3 „ b) + 3 „ c) + 3 „	a) „ b) „ c) + 8 Tage
	Kontrollen: a) + 48 Std., b) + 72 Std.				

partialen Serum auch eine vorteilhaftere Ausnutzung der im Körperorganismus vorhandenen Komplemente zu.

Die Frage nach etwaigen biologischen Differenzen unserer wichtigsten Seucheerreger ist deshalb für die Herstellung wirksamer Heilsera von außerordentlicher Bedeutung, und habe ich es deshalb im folgenden versucht, die Verhältnisse für den Erreger der septischen Pneumonie der Kälber festzustellen. Zunächst machte ich es mir zur Aufgabe, die für die Bekämpfung der septischen Pneumonie der Kälber käuflichen Sera von „Gans“, „Jess-Piorkowski“, „Klett-Braun“ und das Landsberger Serum einer vergleichenden Prüfung zu unterziehen. Zu diesem Zwecke erhielten graue Hausmäuse das betreffende Serum in den verschiedenlichsten Verdünnungen 24 Stunden subkutan vor der ebenfalls unter die Haut applizierten Infektion eingespritzt. Dieses Verfahren der subkutanen Verabreichung von Serum und Kultur hat sich bei den vielfach angestellten Versuchen als am besten herausgestellt.

Der zur Infektion benutzte Stamm J. I. in der ersten Prüfungstabelle steht zu keinem der angeführten Sera in irgendwelcher Beziehung, wohingegen J. II. bei der zweiten vergleichenden Prüfung zur Immunisierung des Serums „Landsberg“ neben anderen Stämmen benutzt wurde. Nur das Serum „Gans“ entfaltete in dem ersten Versuche mit der höchsten Serummenge Schutzkraft gegen die um vieles tödliche Infektion. Sind die geprüften Sera nach dem Prinzip der Polyvalenz hergestellt, so hätte die demselben zukommende Vielheit von Partialambozeptoren auch unter den vielseitigen Nebekomponenten von J. I. und J. II. solche finden müssen, die den Teilambozeptoren im Serum, wenn auch nicht gleich, so doch wenigstens nahestehen mußten. In beschränktem Maße scheint dies ja beim Serum „Gans“ in der Tabelle I der Fall zu sein. Weitere nach dieser Richtung hin angestellte Versuche hatten ähnliche Ergebnisse.

Die Prüfung der Frage, ob bei der Herstellung eines hochwertigen Serums zur Bekämpfung der ansteckenden Pleuropneumonie der Kälber mit einem oder mit möglichst vielen Stämmen zu immunisieren sei, suchte ich zunächst durch Wertbemessung eines monovalenten Serums gegenüber dem eigenen, zur Immunisierung benutzten Stamme, dann aber auch gegen solche fremden Ursprungs darzulegen. Bei der außerordentlichen Pathogenität des *Bacillus vitulisepticus* gegenüber unseren Versuchstieren wurde ein Kaninchen mit einer 24-stündigen Agarkultur, die mit 10 ccm destillierten Wassers abgeschwemmt und 24 Stunden bei 45° C abgetötet worden war, folgendermaßen vorbehandelt:

Kaninchen, Gewicht 1310 g.

4. März.	1310 g	0,1 ccm	abgetötete Agarkultur	Kpn. 13 subk.
14. „	1340 „	0,1 „	„	„ 13 „
25. „	1370 „	0,5 „	„	„ 13 ip.
3. April.	1560 „	0,75 „	„	„ 13 „
17. „	1470 „	0,75 „	„	„ 13 „
1. Mai.	1510 g	$\frac{1}{10000000}$ ccm	24-stünd. Bouillonkultur	ip.
13. „	1570 „	$\frac{1}{10000}$ „	„	„
28. „	1696 „	$\frac{1}{100000}$ „	„	„

Entblutet am 13. Juli 07.

Serum I.

Schutzprüfung an grauen Mäusen.

Serumdosis	$1/1000000$ Kpn. 13 subk.	$1/1000000$ Kpn. 18 subk.	$1/1000000$ Kpn. 256 subk.
0,0075	a) + 5. Tag	a) + 4. Tag	a) + 1. Tag
	b) + 5. "	b) + 6. "	b) + 2. "
0,01	a) lebt "	a) + 7. "	Alle tot nach 24 Std.
	b) "	b) + 2. "	
0,02	a) "	a) + 5. "	
	b) "	b) + 11. "	
Kontrollen	a) u. b) + 30 Std.	a) + 30 Std. b) + 48 "	a) u. b) + 18 Std.

Kaninchen, Gewicht 2250 g.

20. Okt.	07.	2250 g	0,5 ccm abgetötete Agarkultur	Kpn. 256 subk.
26. "	07.	2250 "	0,5 "	" 256 "
30. "	07.	2270 "	1,0 "	" 256 "
5. Nov.	07.	2320 g	$1/10$ Mill. ccm 24-stünd. Bouillonkultur	Kpn. 256 subk.
11. "	07.	2400 "	$1/1000000$ "	" 256 "
17. "	07.	2425 "	$1/100000$ "	" 256 ip.
23. "	07.	2520 "	$1/10000$ "	" 256 "

Entblutet am 7. Dez. 07.

Serum II.

Schutzprüfung an weißen Mäusen.

Serumdosis	$1/10$ Mill. Kpn. 13 subk.	$1/10$ Mill. Kpn. 18 subk.	$1/10$ Mill. Kpn. 256 subk.	$1/10$ Mill. Kpn. 137 subk.
0,02	a) + 2. Tag	a) + 3. Tag	a) + 1. Tag	a) + 2. Tag
	b) + 3. "	b) + 3. "	b) + 2. "	b) + 2. "
	c) + 4. "	c) + 5. "	c) + 7. "	c) lebt
0,05	a) + 2. "	a) + 2. "	a) + 1. "	a) + 2. Tag
	b) + 2. "	b) + 2. "	b) + 2. "	b) + 3. "
	c) lebt	c) + 3. "	c) lebt	c) + 3. "
0,1	a) + 5. Tag	a) + 2. "	a) lebt	a) + 2. "
	b) + 2. "	b) + 2. "	b) "	b) + 2. "
	c) + 3. "	c) + 4. "	c) "	c) lebt
Kontrollen	a) + 30 Std.	a) u. b) + 36 Std.	a) u. b) + 20 Std.	a) + 28 Std.
	b) + 34 "			b) + 32 "

Schutzprüfung an grauen Mäusen.

Serumdosis	$1/10$ Mill. Kpn. 13 subk.	$1/10$ Mill. Kpn. 18 subk.	$1/10$ Mill. Kpn. 256 subk.
0,01	a) + 3. Tag	a) + 2. Tag	a) + 9. Tag
	b) + 3. "	b) + 2. "	b) lebt
0,02	a) + 4. "	a) + 3. "	a) "
	b) lebt	b) + 5. "	b) "
0,05	a) + 5. Tag	a) + 3. "	a) "
	b) + 3. "	b) + 4. "	b) "
Kontrollen	a) + 36 Std.	a) + 36 Std.	a) + 36 Std.
	b) + 34 "	b) + 26 "	b) + 20 "

Die mit den Stämmen Kpn. 13 und Kpn. 256 hergestellten monovalenten Sera I und II gewähren ihren eigenen, zur Immunisierung benutzten Stämmen volle Schutzkraft. Dies kommt besonders dem mit dem Stamme Kpn. 13 hergestellten Serum zu. Gegen die 1000-fach tödliche Infektion schützt eine Serummengende von 0,01, während gegen die übrigen heterologen Stämme kein lebensrettender Schutz erreicht wird. Bei dem weniger virulenten Stamme Kpn. 18 konnte eine etwas

größere Beeinflussung durch das Serum als bei dem bedeutend virulenteren Stamme Kpn. 256 festgestellt werden. Das mit diesem. auf Mäuse äußerst pathogenen Stamm hergestellte Serum müßte nunmehr, wären die etwaigen Stammverschiedenheiten durch die Virulenz bedingt, gegen die weniger virulenten übrigen Stämme ähnlich dem eigenen Schutz entfalten. In der Prüfung an weißen und besonders an grauen Mäusen beeinflusste das Serum II den eigenen Stamm in ausgesprochenster Weise, jedoch bewirkte er auch gegen je eine weiße (0,05) und graue Maus (0,02) dauernde Schutzkraft. Der frisch aus eingegangenen Organen gezüchtete Stamm Kpn. 137 wurde gleichfalls zur Prüfung herangezogen. Auch gegenüber diesem Stamme übt das auf Kpn. 256 eingepaßte Serum bei 2 Mäusen eine Schutzwirkung aus. Wird jedoch in Betracht gezogen, daß in jedem Falle von 3 mit derselben Dosis geimpften weißen Mäusen 2 sterben und nur diese eine am Leben bleibt, und daß fernerhin das Serum eine Maus mit einer Serummengende von 0,02 ccm, die nicht einmal dem eigenen Stamme gegenüber Widerstandsfähigkeit verleiht, schützt, so muß diese Wirkung als nicht spezifisch angesehen werden.

Serumdosis	$\frac{1}{10000000}$ Kpn. 13 subk.	$\frac{1}{10000000}$ Kpn. 18 subk.	$\frac{1}{10000000}$ Kpn. 256 subk.	$\frac{1}{10000000}$ Kpn. 148 subk.	$\frac{1}{10000000}$ Kpn. 153 subk.
0,01	a) lebt b) „ c) „	a) lebt b) „ c) † 8. Tag	a) lebt b) „ c) „	a) lebt b) „ c) † 10. Tag	a) † 3. Tag b) † 8. „ c) † 7. „
0,02	a) lebt b) „ c) „	a) lebt b) „ c) † 8. Tag	a) lebt b) „ c) „	a) lebt b) „ c) † 24 Std.	a) † 6. Tag b) † 5. „ c) † 3. „
Kontrollen	a) † 23 Std. b) † 36 „	a) † 36 Std. b) † 5. Tag	a) † 21 Std. b) † 34 „	a) † 20 Std. b) † 22 „	a) † 5. Tag b) † 45 Std.

In der vorstehenden Tabelle gelangte ein mit mehreren Stämmen hergestelltes Pferdeserum (polyvalentes Serum) zur Prüfung. Nicht nur gegen die bei der Immunisierung benutzten Stämme Kpn. 13 und Kpn. 18, sondern auch gegen die Stämme fremden Ursprungs Kpn. 256 und Kpn. 148 war der Schutz ein bedeutender, während das polyvalente Serum dem Stamme Kpn. 137 gegenüber völlig versagte. Zur Herstellung des Serums wurden nur 4 Stämme verwandt, und läßt deshalb dieser Versuch die Forderung nach einem möglichst polyvalenten Serum als unbedingt notwendig erscheinen.

Ergebnisse.

1) Mit Hilfe monovalenter Sera des *Bac. vitulisepticus* gelingt es, Tiere mit geringen Serummengen gegen die vielfach tödliche Infektion des Herstellungsstammes zu schützen, jedoch nur in ganz vereinzelten Fällen die Schutzwirkung auf nicht zur Immunisierung benutzte Stämme zu erstrecken.

2) Es müssen demnach auch für den Erreger der ansteckenden Lungen-Brustfellentzündung der Kälber Rasseverschiedenheiten ein und desselben Mikroorganismus in Anspruch genommen werden.

3) Für eine aussichtsvolle Bekämpfung der septischen Pleuropneumonie der Kälber ist die Verwendung von Heilsera, die mit einer möglichst großen Anzahl von Stämmen der verschiedentlichsten Herkunft hergestellt sind, unbedingtes Erfordernis.

Zum Schlusse bin ich Herrn Dr. Schreiber, Landsberg a. W. für Ueberlassung des Themas und Bereitstellung der Institutsmittel im bakteriologischen Laboratorium zu Landsberg a. W. zu Danke verpflichtet.

Literatur.

- 1) Lipstein, Ueber Immunisierung mit Diphtheriebacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 46. p. 821.)
- 2) Wassermann, Ueber Agglutinine und Präzipitine. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLII. 1903. Heft 2. p. 267.)
- 3) Wechsberg, Zur Lehre von den antitoxischen Seris. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. No. 8. p. 849.)
- 4) Wassermann und Ostertag, Ueber polyvalente Sera mit besonderer Berücksichtigung der Immunität gegenüber den Erregern der Schweineseuche. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLVII. 1904. p. 416.)
- 5) Bruck, Experimentelle Beiträge zur Immunität gegenüber Schweineseuche. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLVII. 1904. p. 428.)
- 6) Krautstrunk, Zur Frage der Gleichheit oder Verschiedenheit der Schweineseuchestämme. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLVII. 1904. p. 440.)

Nachdruck verboten.

Experimentelle Erzeugung maligner Tumoren bei Tieren durch Infektion.

Von Otto Schmidt in Köln.

Ende Dezember 1905 sprach ich in einer Sitzung des Komitees für Krebsforschung in Berlin über fünf maligne Tumoren (4 Mäusecarcinome und 1 Rattensarkom)¹⁾, welche durch Infektion der Tiere mit einem aus menschlichen Carcinomen gewonnenen Mikroorganismus an der Injektionsstelle entstanden waren, und demonstrierte die zugehörigen Präparate.

Seither ist ihre Anzahl, wenn ich den von Baisch²⁾ berichteten Fall dazurechne, auf acht gestiegen. Die geringe Ausbeute im Jahre 1906 und der vollständige Mißerfolg im Jahre 1907 ist auf die mittlerweile eingetretene Avirulenz der Kulturen zurückzuführen. Neue, nicht durch Bakterien verunreinigte Stämme zu bekommen, gelang mir nicht, und ebenso mißlang es, trotz zahlreicher dahinzielender Versuche, die Virulenz der alten Stämme wieder zu steigern. Ich werde noch Gelegenheit haben, von einer größeren Anzahl Tumoren zu sprechen, die nach einer bestimmten Inkubationszeit entstanden, langsam wuchsen, um dann rasch wieder der Resorption anheimzufallen.

Auf den Fall von Baisch brauche ich nicht weiter einzugehen; Baisch faßt zum Schluß sein Urteil dahin zusammen: „Es kann wohl nicht bezweifelt werden, daß es sich um einen experimentell durch die Einspritzung des infizierten *Mucors* erzeugten Tumor handelte.“

Von meinen beiden neuen Fällen, die zu den bereits veröffentlichten fünf hinzukommen, war der eine ein malignes Adenom bei einer Ratte, ausgehend von der Brustdrüse; der zweite ein Adenocarcinom der Maus, das sich in der Subcutis entwickelt hatte.

Als ich im Komitee für Krebsforschung sprach, demonstrierte ich außer den malignen Geschwülsten noch die Präparate eines zweiten

1) Münchener med. Wochenschr. 1906. No. 4.

2) Deutsche med. Wochenschr. 1908. No. 7.

Rattentumors (geimpft 5. Oktober 1904), der histologisch und nach den negativen Ergebnissen der Transplantation als ein gutartiges Adenom angesprochen werden mußte. Der Tumor wurde am 11. August 1905 exstirpiert und von ihm kleine Stückchen in Hauttaschen von 5 Ratten (Pr. No. 216—220) transplantiert; der kleine Schnitt wurde durch eine Naht geschlossen und mit Kollodium bedeckt. Die Impfknotchen waren nach etwa 14 Tagen verschwunden.

Mitte November fanden sich bei 2 Ratten linsengroße, weiche Knötchen an der Transplantationsstelle, worüber ich zur Zeit meines Vortrages leider noch nicht informiert war. Die Knötchen wuchsen sehr langsam; sie hatten anfangs Februar 1906 etwa Erbsengröße, anfangs März Kleinhaselnußgröße erreicht. Bei einer Untersuchung am 12. Mai waren die Tumoren walnußgroß, weich, mit der Unterlage fest verwachsen und schwer beweglich.

Am 16. Juni, nachdem die Tumoren noch bedeutend an Größe zugenommen hatten, wurde von einer dieser Ratten (No. 216) auf 6 weitere, teils subkutan teils intraperitoneal, transplantiert. Leider verendeten 4 Stück, bevor ein Erfolg der Inokulierung erwartet werden konnte; bei den beiden überlebenden war das Resultat negativ. Bei der zweiten Ratte war der Tumor mittlerweile exulzeriert und zur Transplantation nicht mehr zu gebrauchen. Immerhin genügte ja der Erfolg der ersten Transplantation, bei welcher wir 40 Proz. Ausbeute hatten und 2 sehr große Tumoren erhielten, um die Malignität zu beweisen. In die Augen fallende Unterschiede der Struktur zeigten die 3 Tumoren nicht. Es war auch bei den durch Transplantation gewonnenen Tumoren nicht möglich, aus dem mikroskopischen Bild auf Malignität zu schließen. Bei Adenom ist das nichts Seltenes. Denn die malignen Adenome behalten, wie sich Ribbert (Geschwulstlehre) ausdrückt, den Bau, den die gutartigen Adenome besitzen.

Im VII. Falle handelte es sich wieder um eine Maus, die am 7. Sept. 1905 mit einer 3 Wochen alten Kultur geimpft worden war. Der Impfung wurden 20 Mäuse eigener Zucht und je 15 Mäuse von 2 fremden Stämmen, also im ganzen 50 Stück, unterworfen. Unsere Impfausbeute betrug 2 maligne Tumoren, also 4 Proz., 1 Adenocarcinoma haemorrhagicum bei einem Tier einer fremden und 1 gewöhnliches Adenocarcinom bei einem Tier unserer eigenen Zucht.

Der erste Tumor (schon zitiert als Fall IV) charakterisiert sich als ein Adenocarcinom, das, ausgesprochen erst von der zweiten resp. dritten Generation ab, zahlreiche, eng beieinanderliegende, mit Blut gefüllte Hohlräume aufwies. Entgegen den ähnlichen Fällen Ehrlichs war es sehr virulent. In die Bauchhöhle injizierte Zellen begannen gleichzeitig an den verschiedensten Orten zu wuchern und bildeten auch echte Metastasen (z. B. in der Leber). Von den Tieren, auf welche intraperitoneal transplantiert worden war, ging eine Anzahl an Blutungen in die Bauchhöhle zugrunde; die anderen zeigten zum mindesten stark blutige Ergüsse.

Der zweite Fall dieser Serie (Fall VII der Impftumoren) erwies sich mikroskopisch als Adenocarcinom. 3 Monate nach der Impfung fand sich an der Impfstelle ein stark linsengroßes, derbes Knötchen, welches sofort exstirpiert wurde. Ein Teil kam zur Einbettung, der Rest wurde zur Transplantation auf 10 Mäuse verwandt. Von diesen gingen 6 Stück bereits am nächsten Tage infolge eines unglücklichen Zufalles ein; bei den noch restierenden 4 Tieren war der Erfolg negativ.

Von großem Interesse und sehr wichtig für die Beurteilung der ganzen Frage waren diejenigen Versuchsreihen, in welchen sich nach Ablauf einer gewissen Inkubationszeit Knötchen an der Injektionsstelle bildeten, kontrollierbar wuchsen, um dann wieder zurückzugehen und zu verschwinden.

Aus einem Adenocarcinom der Maus, welches durch Injektion eines vom Menschencarcinom gewonnenen *Mucor* experimentell erzeugt worden war, wird ein neuer, bakterienfreier *Mucor*-Stamm gewonnen. Mit ihm werden eine Anzahl Impfungen vorgenommen, von welchen ich nur folgende Serien anführe: Geimpft wurden am 17. März 1905 4 Mäuse (Pr. No. 264—267). Nachdem die primäre Schwellung nach einigen Tagen verschwunden war, bleibt der Befund vorläufig negativ.

Am 10. April 1905: Eine Maus geringe Verdickung an der Impfstelle; die übrigen nichts.

27. April: 1 Maus stecknadelkopfgroßes Knötchen an der Impfstelle; die übrigen nichts.

6. Mai: 3 Mäuse zeigen etwa linsengroße, derbe Knoten.

21. Juni: Befund bei sämtlichen Mäusen negativ.

Serie vom 11. April 1905. Geimpft 4 Mäuse (Pr. No. 280—283).

27. April: 3 Mäuse zeigen derbe, stecknadelkopfgroße Knötchen.

6. Mai: 2 Mäuse zeigen stecknadelkopfgroße, 2 etwas kleinere Knötchen.

12. Mai: 1 Maus linsengroße, 2 stecknadelkopfgroße Knötchen.

8. Juni: 3 Mäuse zeigen flache, derbe Schwellungen von Linsengröße und darüber.

21. Juni: Sämtliche Knoten verschwunden.

Serie vom 18. April. 4 Mäuse (Pr. No. 284—287).

6. Mai: 3 Mäuse zeigen nichts, eine einen linsengroßen, derben Tumor.

12. Mai: Der Tumor ist bis zur Größe einer kleinen Erbse gewachsen.

12. Juni: Er hat abgenommen und ist nur mehr von Linsengröße.

6. Juli: Er ist stecknadelkopfgroß.

20. Juli: Der Tumor ist verschwunden.

Von diesen Neubildungen sind die Abszesse wohl zu unterscheiden, die zuweilen an der Injektionsstelle auftreten. Sie schließen sich naturgemäß an die primäre Infiltration an und entwickeln sich aus ihr ohne jede Unterbrechung, während die Geschwulstbildungen oft erst Wochen, ja Monate nach dem Zeitpunkt auftreten, nachdem die primäre Infiltration längst verschwunden ist. Wir haben es leider versäumt, diese kleinen Geschwülste, bis auf eine (Fall VII), auszuschneiden und zu studieren, weil wir von jeder erwarteten, daß sie zu einem großen transplantierbaren Tumor auswachsen würde.

Bemerkenswert ist, daß, je älter die Kultur wurde, d. h. je öfter der Parasit seinen Entwicklungsgang im *Mucor* durchgemacht hatte, desto seltener diese kleinen Knötchen auftraten, bis sie in den letzten Serien überhaupt nicht mehr beobachtet werden konnten. Wir können diesen Vorgang nur als Folge einer allmählich auftretenden Virulenzabschwächung ansehen; er findet sein Analogon in den sich nach der Transplantation von wenig virulenten Carcinomen oft entwickelnden vergänglichen Carcinomanlagen, wie wir sie oft beobachtet haben und wie sie auch von Ehrlich¹⁾ beschrieben worden sind. Die Erklärung liegt bei den Impfstoffen natürlich nicht in der Abnahme der Virulenz transplantierter Carcinomzellen, denn diese scheiden ja ganz aus. Wollte man aber nach diesen Erfahrungen die Abnahme der Proliferationsfähigkeit der transplantierten Zellen auf etwas anderes zurückführen als auf die Abnahme der Virulenz des mitüberpflanzten Parasiten, so hieße das den Dingen Gewalt antun.

1) Arbeiten aus dem Kgl. Institut für exper. Therapie, Heft 1.

Das Entstehen der Carcinomanlage nach einer gewissen Inkubationszeit unter der Einwirkung des Parasiten, ihr anfängliches Wachstum und ihr rasches Verschwinden spricht dafür, daß in dem Parasiten nicht allein die kausale Genese der Entstehung der malignen Geschwulst, sondern auch die kausale Genese des unbeschränkten Wachstums liegt — solange seine Virulenz genügend groß ist. Andernfalls kommt es zu einem baldigen Stillstand der Wucherung und rascher Resorption der nun widerstandslosen Zellen.

Wie rasch die Virulenz des Impfstoffes abnahm, zeigt folgende Zusammenstellung: Gesamtsumme der geimpften Mäuse im März und April 1905 = 32. Davon positiv (Spätknoten) 15, negativ 17.

Mit der gleichen Kultur wurden geimpft im Mai 16 Stück — alle negativ; im November 32, sämtlich negativ.

Im Oktober wurden mit einer jüngeren Kultur, die aus einem Mammacarcinom etwa 1 Jahr vorher gezüchtet worden war und erst 10mal den Zwischenwirt (*Mucor*) durchlaufen hatte, 22 Mäuse infiziert; die Ausbeute ergab: 9 positive Fälle, die nach 6—8 Wochen beginnend, bis auf Erbsengröße anwuchsen, um dann in ganz kurzer Zeit wieder resorbiert zu werden.

Daß die Annahme einer Malignität dieser zahlreichen kleinen Knoten bis zu einem gewissen Grade gerechtfertigt ist, ergab sich aus dem einen, zur mikroskopischen Untersuchung gekommenen Fall (Fall VII).

Gegen die Behauptung eines Forschers, daß er auf künstlichem Wege maligne Tumoren erzeugt habe, lassen sich zwei Einwände erheben.

Der erste geht dahin, daß die Tumoren überhaupt nicht den Charakter der malignen Geschwülste — im anatomischen und klinischen Sinne — zeigen; der zweite stützt sich auf die Tatsache des spontanen Vorkommens von Krebs und Sarkom bei Tieren, und verweist alle angeblich künstlich erzeugten Tumoren, denen eine Malignität nicht abzusprechen ist, in das Bereich des spontanen Entstehens, bezeichnet sie als Zufallsprodukte. Dem Schicksal, vom Urteil der Sachverständigen ihres Charakters als maligne Neubildungen entkleidet zu werden, erlagen bisher alle durch Mikroorganismen künstlich hervorgerufene Tumoren; weder die von Doyen mit dem *Micrococcus neoformans*, noch die von Sanfelice mit Hefepilzen erzeugten Geschwülste erwiesen sich einer wissenschaftlichen Kritik gegenüber als wirkliche Neubildungen: es handelte sich in allen Fällen um Granulationsgeschwülste. v. Dungern und Werner¹⁾ haben kürzlich eine Auslese aus der Literatur dieser angeblichen Neubildungen gebracht; nach Kennzeichnung der wahren Natur derselben fahren sie fort: „Einwandfreie Tumoren hat in der neuesten Zeit Otto Schmidt als Produkte seiner Impfversuche gezeigt.“ Wie diese Autoren, welche selbst meine Präparate gesehen haben, urteilen die übrigen Gutachter, worunter sich eine Anzahl der ersten Vertreter der pathologischen Anatomie befinden.

Die Kritik hat an diesem Punkte nicht eingesetzt, wohl weil die Beweise für die maligne Natur zu überzeugend waren.

Die Malignität einer Geschwulst ist nicht immer mit dem Mikroskop allein festzustellen; v. Hansemann äußert sich über diesen Punkt dahin: „Vor allem ist die Eigenschaft des Bösartigen nicht derart, daß es sich morphologisch an jedem Tumor notwendig darstellen müßte. — Die Bösartigkeit äußert sich in dem schrankenlosen Wachstum, in der

1) Das Wesen der bösartigen Geschwülste.

Generalisation und in der Aeußerung schädigender Lebenseigenschaften.“ Damit ist natürlich nicht gesagt, daß in allen Fällen zur Stellung der Diagnose die Kenntnis des klinischen Verlaufs unbedingt nötig wäre. In der weitaus größten Zahl aller Fälle ist das histologische Bild so prägnant, daß eine sichere Beurteilung möglich ist. Doch sind die Grenzen zwischen den malignen Tumoren und den gutartigen Wucherungen oft so verschwommen, daß unmerkliche Uebergänge überall vorhanden sind. Hier werden wir, um ganz sicher zu gehen, den Ablauf der Erscheinungen während des Lebens mit größtem Vorteil zur Sicherung der Diagnose heranziehen. Die auffallendste klinische Erscheinung, welche für Malignität spricht, ist die schrankenlose Wucherung, oder, wie v. Dungern und Werner es sehr prägnant ausdrücken, das dauernd beschleunigte Wachstum der Geschwulst.

Da es mir darauf ankommen mußte, den Beweis der Malignität für meine künstlich erzeugten Tiertumoren einwandfrei zu erbringen, habe ich durch Transplantation zu zeigen versucht, daß das Wachstum ein dauernd gesteigertes ist. Ich nehme an, daß die Entstehung einer Geschwulst nach Uebertragung von Geschwulstzellen auf Tiere derselben Art gleichbedeutend ist mit dem Auftreten einer Metastase. Metastasierende Geschwülste sind aber immer als maligne angesehen worden; so sagt v. Hansemann: „Eine Geschwulst, die Metastasen macht, ist für mich, und war es bisher für alle, bösartig, selbst wenn der Primärtumor oder das Primärorgan keine maligne Struktur erkennen läßt und die Metastase nicht rezidiert oder sich spontan zurückbildet.“

Da das Leben unserer kleinen Versuchstiere zu kurz ist und ihre Widerstandsfähigkeit durchschnittlich nicht lange genug vorhält, um größere Metastasen in ihrem Körper entstehen zu lassen, verbinden wir eine Reihe von Individuen derselben Art zu einer fortlaufenden Kette, studieren im Leben der Art, was wir im Leben des Individuums nicht genügend ergründen konnten. Der Verlauf der Erkrankung bei kleinen Tieren ist, sofern es sich um schnell wachsende Geschwülste handelt, äußerst rasch, was nicht wunder nehmen kann, wenn man bedenkt, wieviel ein etwa taubeneigroßer Tumor zu seiner Ernährung und besonders zur Fortpflanzung seiner Zellen braucht. Ein solcher Tumor frißt, wie Ehrlich sagt, mit tausend Mäulern. Die Tiere sterben fast ohne Ausnahme an Erschöpfung. Zerstörung lebenswichtiger Organe durch Einwucherung des Primärtumors oder Entwicklung von Metastasen in ihnen habe ich selten beobachtet.

Ich denke, daß mir auch der Beweis des dauernd beschleunigten Wachstums bei meinen experimentell erzeugten Tumoren durch das Tierexperiment gelungen ist. Wenn ich den Fall von Baisch ausnehme, der bei der Entdeckung bereits ulzeriert war, und sich zu Transplantationen nicht mehr eignete, so erzielte ich bei der ersten Inokulierung meiner Primärtumoren unter 7 Fällen 6 Erfolge = 85,70 Proz. Dagegen betrug die Ausbeute, welche Ehrlich von seinen Spontan-tumoren erhielt, nur 15,90 Proz. (14 von 94); stellen wir die Zahl der Einzelinokulierungen, die positiv ausfielen, zum Vergleich auf, so fallen bei Ehrlich auf 1504 Einzelübertragungen 41, also 2,8 Proz. Erfolge. Wir erhielten dagegen bei 59 Einzelübertragungen 21 Tumoren, also einen in Prozenten ausgedrückten Erfolg von 25,5. Die Erfolge anderer Forscher bei ihren Uebertragungen waren noch geringer als die Ehrlichs. Bashford (The growth of Cancer etc.) verfügte über 6 Spontan-

tumoren; er erzielte bei 796 Einzelübertragungen im ganzen 9 Erfolge, also 1,13 Proz.

Stellen wir diese Zahlen zusammen, so erzielte:

Bashford (bei Spontantumoren) 1,13 Proz.,

Ehrlich (bei Spontantumoren) 2,8 Proz.,

Schmidt (bei experimentell erzeugten Tumoren) 35,5 Proz.

Meine Erfolge übertreffen also die Bashfords um das 31-fache, die Ehrlichs fast um das 13-fache.

Auch die später vorgenommenen Transplantationen ließen an Virulenz nichts zu wünschen übrig. Ziehe ich die 4 ersten Mäusetumoren, soweit sie bis jetzt durchgearbeitet sind, in Betracht, so erhielten wir in diesen 4 Fällen, in zusammen 27 Generationen, die sich auf die einzelnen Mäuse ganz verschieden verteilen, 226 positive Resultate bei 352 Transplantationen; das entspricht einer Ausbeute von 64,2 Proz. Ich bemerke, daß wir das Prinzip der künstlichen Zuchtwahl, die Virulenzsteigerung durch Auswahl der am schnellsten gewachsenen Tumoren zur Transplantation, zu der Zeit noch nicht anwandten. Dennoch erhielten wir, wie Ehrlich, oftmals 100 Proz. Ausbeute. Sie betrug beim ersten Stamme in 12 Generationen im Durchschnitt 76,7 Proz.

Der Charakter der von mir bei Tieren künstlich hervorgerufenen Geschwülste als Neubildungen und ihre Malignität kann hiernach nicht mehr in Zweifel gezogen werden. Die Bösartigkeit, oder sagen wir die Virulenz der Primärtumoren überragte die aller Spontantumoren um das Vielfache. Ich schließe daraus, daß die Virulenz einer Geschwulst keine Eigenschaft der tierischen Zelle, sondern nur bedingt ist durch die Virulenz des Erregers; die Transplantationsfähigkeit der Zelle und die Schnelligkeit der Proliferation, von der das Wachstum des Tumors abhängt, ist adäquat der Virulenz des Erregers.

Der zweite Einwand, mit dem die Kritik sehr freigebig war, ist der, daß es sich bei meinen Beobachtungen um zufällige Befunde gehandelt habe. Nur v. Dungern und Werner und Baisch stellen sich auf den Standpunkt, daß kein Zweifel daran möglich sei, daß die Neoplasmen der künstlichen Infektion ihre Entstehung verdanken. Ihr Urteil fällt um so schwerer ins Gewicht, oder sagen wir, ist allein von Wert, weil es sich auf eigene Erfahrung, auf die selbständige Beobachtung von Tatsachen und teilweise auf eigene Experimente stützt. Meiner Meinung nach — und ich stehe da nicht allein — haben in der Wissenschaft nur diejenigen ein Recht zur Begutachtung von Versuchsergebnissen, welche diese Versuche nachgeprüft haben; anderenfalls dürfte es besser sein, sie beschränkten sich nur auf ein Referat. Doch zu den Tatsachen!

v. Dungern und Werner bezeichnen es als besonders bemerkenswert bei meinen Resultaten, daß auch bei männlichen Mäusen, bei denen spontane Tumoren außerordentlich selten sind, positive Resultate erzielt wurden; auch Baisch weist in seiner mehrfach zitierten Veröffentlichung mit besonderer Betonung auf diesen Umstand hin. Apolant gibt in seiner Arbeit „Die epithelialen Geschwülste der Maus“ an, daß sich unter den sämtlichen mit Spontantumoren behafteten Mäusen kein einziges Männchen befunden habe; die Gesamtzahl der im Frankfurter Institut beobachteten Tumormäuse betrug 221. Die Zahl aller außerdem noch von den verschiedensten Forschern (Michaelis, Borrel, Bashford etc.) aufgefundenen Tumormäuse, soweit sie in der Literatur veröffentlicht sind, gibt Apolant auf etwa 70 an, worunter

ein Männchen (Bashford). Es wurde also unter 291 Spontantumoren ein Fall bei einem Männchen festgestellt, oder 0,34 Proz.

Da über die bis jetzt bei Ratten beobachteten Tumoren noch keine Statistik besteht, kann ich zum Vergleich nur mein Mäusematerial benutzen. Rechne ich den Fall von Baisch mit, so zählen wir unter 6 Tieren unserer Beobachtung 4 Männchen oder 66,6 Proz. der Gesamtsumme. Sollte das wirklich Zufall sein?

Bei Beginn unserer Tierversuche lagen die schätzenswerten Angaben Apolants über den Sitz der Geschwulst noch nicht vor. Wir injizierten deshalb an den Stellen, die uns die bequemsten waren, im Rücken, oberhalb der Schwanzwurzel, und auf der Bauchseite, etwa in der Mitte des Bauches. Die später auftretenden Tumoren saßen — ich berücksichtige auch hier, um einen Vergleich zu ermöglichen, nur die Mäuse — an der Impfstelle und zwar:

Bei Maus I links neben der Schwanzwurzel;

Maus II unter der Bauchdecke;

Maus III rechts neben der Schwanzwurzel;

Maus IV rechts am Thorax (Infektion neben der Wirbelsäule, in der Höhe des späteren Tumors.

Maus V Grenze von Bauchwand und Thorax.

Nach der Zusammenstellung Apolants sind die Prädilektionsstellen der Spontantumoren am Mäusekörper: in 48 Proz. an der Brustwand, besonders in der Achselhöhle; in 25 Proz. an der seitlichen Bauchwand; in 16 Proz. in der Nachbarschaft der Vulva und in 13 Proz. am Halse. Die Prädilektionsstellen unserer Tumoren waren die Infektionsstellen, die „zufälligerweise“ nicht dieselben waren, wie die von den Spontantumoren bevorzugten. Sollte auch da wieder der Zufall eine Rolle gespielt haben?

Ehrlich und Apolant glauben, daß bei allen Mäusetumoren in erster Linie die Mamma als Ausgangspunkt in Betracht zu ziehen sei. Diese Möglichkeit muß zugegeben werden; es würden dann aber auch versprengte Keime der Brustdrüse an den Orten angenommen werden müssen, an welchen unsere Tumoren sich entwickeln.

Ich habe früher (Münchener med. Wochenschr. 1906. No. 4) bereits ausgeführt, daß auch das Verhältnis der Mäuse mit Spontantumoren zu den gesunden in einem gewaltigen Gegensatz steht zu dem Verhältnis der Tiere mit nach Impfung aufgetretener Geschwulst zu den nach der Impfung gesund gebliebenen. Wären die Neubildungen nicht als Produkte der Impfung, sondern auch bei diesen Tieren als Spontantumoren aufzufassen, so müßte das Verhältnis gleich sein. Die Rechnung ergibt aber, das 156mal mehr Tiere nach Injektion meiner Reinkulturen an malignen Geschwülsten erkranken, als spontan.

Ist hiermit der zahlenmäßige Nachweis geführt, daß meine sämtlichen 8 malignen Tiertumoren der Infektion mit ein und demselben Mikroorganismus ihre Entstehung verdanken, so kann kein Zweifel obwalten, daß derselbe Parasit auch als Erreger bösartiger Neubildungen beim Menschen zu betrachten ist. Zu diesem Schlusse zwingt die Tatsache, daß der Mikroorganismus, mit dessen Reinkultur die Tiere infiziert worden sind, einem menschlichen Carcinom entstammt. Damit ist der Nachweis noch nicht geführt, daß alle menschlichen oder tierischen Neubildungen maligner Natur diesem Erreger oder einem Erreger überhaupt ihre Entstehung verdanken. An der Hand biologischer

Methoden wird, wie ich hoffe, recht bald diese Frage zur Entscheidung gebracht werden können.

Zusammenfassung.

Es ist gelungen, bei 8 Tieren durch Infektion mit einem aus menschlichem Carcinom gezüchteten Mikroorganismus maligne Neubildungen zu erzeugen. Die Malignität ist bewiesen durch die histologische Struktur und die Virulenz der Tumoren.

Ein Zufall ist auszuschließen:

1) wegen der Höhe des Anteils, welcher an Tumoren, entgegen den Spontantumoren, auf männliche Tiere entfällt;

2) wegen des Sitzes der Tumoren am Orte der Infektion, der zufällig an Körperstellen liegt, an welchen Spontantumoren niemals oder äußerst selten beobachtet worden sind;

3) wegen der außerordentlich großen Differenz in den Zahlen einerseits der Spontantumoren bei den Mäusen überhaupt und andererseits der experimentell erzeugten Tumoren bei den geimpften Tieren.

Nachdruck verboten.

Impfversuche mit spirillenhaltigem Blut.

Von C. Fraenkel, Halle a. S.

Unter dem auch diesen Zeilen vorangesetzten Titel veröffentlicht M. Rabinowitsch in Bd. XLVI. Heft 7. p. 581 dieser Zeitschrift eine Anzahl von Beobachtungen, in denen hervorgehoben wird, daß Ratten bei der Uebertragung der Spirillen des echten russischen Recurrensfiebers unempfindlich, Mäuse hingegen, und zwar insbesondere junge Tiere dieser Art, der Infektion zugänglich sein sollen. „Nur bei ganz jungen Mäusen blieben die Spirillen mehrere Tage im Blute nachweisbar und haben sich dort stark vermehrt.“ Wie zur Bestätigung dieses seines Befundes verweist Rabinowitsch dann noch auf eine von mir herrührende und in Nr. 5 1907 der Hygienischen Rundschau erschienene Mitteilung, in der ich erwähnte, daß ich in einigen in Moskau geimpften Tieren, Ratten und Mäusen, vergeblich nach Spirillen gesucht habe, und daß es mir nicht geglückt sei, im Blute der eben genannten Tiere Spirillen nachzuweisen. Indessen hat R. hierbei völlig übersehen, daß ich in No. 22 der Klinischen Wochenschr. 1907, also bereits vor mehr als Jahresfrist, weitere Untersuchungen veröffentlicht habe, in denen ich gerade für die russischen Spirillen die Möglichkeit ihrer Verimpfbarkeit auf Ratten und Mäuse, sowie ferner auch auf Affen und Hamster hervorhob, sowie ferner auch, daß Fülleborn und Mayer in der Mediz. Klinik. 1907. No. 17. p. 487, sowie Uhlenhuth und Haendel in den Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. XXVI 1907. p. 1—10 gleichsinnige Beobachtungen mitgeteilt und ebenfalls eine Uebertragung der russischen Spirillen auf Ratten und Mäuse beschrieben haben. Schon nach diesen übereinstimmenden Befunden kann es gar keinem Zweifel mehr unterliegen, daß die russischen Spirillen auch auf Ratten, ebenso wie beispielsweise auf Hamster verimpft werden können, und in weiterer Abweichung von den R.schen Ergebnissen will ich nur noch erwähnen, daß mir ein irgendwie greifbarer Unterschied hinsichtlich der

Empfänglichkeit älterer und jüngerer Tiere niemals aufgefallen ist, wenngleich die letzteren etwas eher und auch meist in größerer Menge die Schrauben aufzuweisen pflegen.

Sind danach in Abweichung von den Rabinowitschschen Befunden Mäuse und Ratten als besonders brauchbare Tierarten bei den Versuchen mit den russischen Recurrensspirillen erwiesen, so will ich hier nur noch erwähnen, daß sich die Bösartigkeit der Spirillen seit etwa Jahresfrist in nicht unerheblichem Maße gesteigert hat, insofern, als die Mäuse jetzt nahezu ausnahmslos, von den Ratten aber etwa die Hälfte nach der Infektion zugrunde gehen. Wir haben also hier ganz die gleiche Erscheinung vor uns, die sich auch bei den Spirillen des amerikanischen und des afrikanischen Fiebers zu erkennen gegeben und hier zu etwa dem nämlichen Ergebnis geführt hat. Bei denjenigen Ratten, die nach der Impfung mit dem Leben davon kommen, ebenso wie bei den wenigen Mäusen, die die erste Infektion überstehen, sieht man in der Regel ein oder mehrere Rezidive des Vorkommens der Krankheitserreger im Blute auftreten. So haben wir einige Male bis zu vier derartige, durch mehrtägige Pausen voneinander getrennte Rückfälle beobachtet, von denen jeder folgende in kürzerer Zeit zu verlaufen und rascher auszuklingen pflegt, als der vorhergehende.

Nachdruck verboten.

Einige Untersuchungen über das Nagana-Trypanosoma

[Bakteriologisches Institut O. R. M. Napoli.]

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. **Mario Battaglia**, kgl. Marine-Stabsarzte.

Bei den Versuchen, die ich mit dem Nagana-Trypanosoma anstellte, um zu erfahren, ob dasselbe sich ebenfalls durch Sporogonie entwickelt, wie das von mir untersuchte Trypanosoma vespertilionis (Battaglia) und das Trypanosoma Lewisi, habe ich feststellen können, daß auch das Nagana-Trypanosoma in denjenigen Tieren, denen es injiziert wurde (Meerschweinchen, Hunde, Hündinnen), seine Entwicklung mit einer endoglobulären Amöbenform beginnt.

Bei einer jungen Hündin, der ich eine Oese Blutes eines an Nagana gestorbenen Meerschweinchens in die Vagina injiziert hatte, konstatierte ich, abgesehen von der allgemein bekannten und auch von anderen untersuchten Infektion, eine Vulvovaginitis und eine Anschwellung der Cervicaldrüsen. In der Vagina fand sich das Nagana-Trypanosoma fast in Reinkultur. Abgesehen davon, zeigte sich die Hündin kränker und niedergeschlagener als die anderen Kontrollhunde und -hündinnen, die ebenfalls mit Nagana infiziert worden waren.

Diese Veränderung der Genitalorgane infolge der direkten Verimpfung des Nagana-Trypanosomas, die Persistenz und die Lebensfähigkeit der Trypanosomas in der Vagina und die schwere Infektion, welche unter sonst gleichen Bedingungen und bei gleicher Dauer bei der Hündin durch direkte Verimpfung des Nagana-Trypanosomas in die Vagina ent-

steht, sind in höchstem Maße wichtige experimentelle Tatsachen, welche von allen denen, die sich jetzt mit der Untersuchung der pathogenen Protozoen beschäftigen, nachgeprüft zu werden verdienen. Dies ist der Grund, der mich zur Veröffentlichung der kurzen vorläufigen Mitteilung veranlaßt hat.

Neapel, 18. April 1908.

Nachdruck verboten.

Ueber Balantidienenteritis.

[Aus der II. medizinischen Abteilung und der Prosector des k. k. Rudolfsitals in Wien.]

Von Dr. K. Glaessner, Assistenten.

Die Balantidien-Enteritis ist eine Erkrankung, welche hauptsächlich in Rußland und Schweden vorzukommen pflegt. Naturgemäß sind deshalb Beschreibungen dieser seltenen Erkrankung, von der bis jetzt ca. 90 Fälle in der Literatur verzeichnet sind, von Autoren dieser Länder erschienen. In Deutschland und Oesterreich scheint die Krankheit äußerst selten zu sein und hat vielleicht aus diesem Grunde nicht die Beachtung gefunden, die sie zweifellos als vom Tier auf den Menschen übertragbare Zoonose verdient.

Die erste klassische Schilderung der Krankheit und ihres Erregers beim Menschen verdanken wir Malmsten¹⁾ in Stockholm, und es sei seine Beschreibung, die noch heute ihre volle Giltigkeit hat, hier kurz wiedergegeben. Malmsten konnte 2 Fälle von Enteritis beobachten, von denen einer zur Obduktion kam. In den Defäkationen der Kranken fand er kleine Tierchen, die drehrund, eiförmig, vorne etwas zugespitzt, die Länge von etwa 0,1 mm aufwiesen. Das Tier wurde nach Nahrungsaufnahme breiter, schmaler, wenn es sich bewegte. Am ganzen Körperumfang fanden sich Cilien, die unregelmäßige Anordnung aufwiesen, die Mundöffnung war von längeren Wimpern umgeben, der After der Bauchseite etwas genähert. Im Inneren der Parasiten waren Nuclei, ferner blasenförmige Gebilde und Teile von verschluckter Nahrung. Der Nucleus hatte eliptische Form. Die Blasen, gewöhnlich zwei, waren kontraktile; sie kontrahierten sich sehr langsam und veränderten dabei ihre Form nicht unerheblich. Sehr lebhaft waren die Bewegungen der hauptsächlich an Schleim und Eiter der Defäkationen zahllos vorhandenen Tierchen. Ihre Lebensdauer nach der Entleerung im Kot betrug 2–3 Stunden, doch gelang es Malmsten sie einmal bis 24 Stunden am Leben zu erhalten. Die Sektion des 2. beobachteten Falles zeigte im Coecum und Processus vermiformis zahllose Balantidien, im Dickdarm brandige, mit Eiter bedeckte Ulzerationen. Malmsten war der Ansicht, daß die gefundenen Tierchen mit der Diarrhoe und den geschilderten, pathologisch-anatomischen Veränderungen in ursächlichem Zusammenhang standen, doch ist er in seinen Schlüssen sehr vorsichtig; was die Therapie betrifft, so waren bei dem ersten geheilten (?) Fall Eingüsse von verdünnter Salzsäure wirksam.

1) Virchows Arch. Bd. XII. 1857. p. 302.

Der Publikation Malmstens folgten rasch eine Reihe von Beschreibungen ähnlicher Fälle. Es seien hier nur die Beobachtungen von Stieda¹⁾ (2 Fälle), von Eckerkrantz²⁾, Belfrage³⁾, Wising⁴⁾, Petersson⁵⁾ (3 Fälle), Henschen⁶⁾ (5 Fälle), Löscher⁷⁾ (2 Fälle) erwähnt. Interessant ist die Mitteilung von Stokvis⁸⁾, der auch im Auswurf eines von den Sundainseln zurückgekehrten Soldaten einen lebenden und mehrere abgestorbene Parasiten fand. Von jüngeren Publikationen mögen die von Rapcewsky⁹⁾ (3 Fälle), von Gurwitsch¹⁰⁾ (6 Fälle), von Runeberg¹¹⁾ (2 Fälle), Roos¹²⁾, Sievers¹³⁾, Edgren¹⁴⁾, Graziadei¹⁵⁾ genannt werden. Eingehende Darstellungen des Krankheitsbildes finden wir bei Janowski¹⁶⁾, Klimenko¹⁷⁾, Ortmann¹⁸⁾, Woit¹⁹⁾ und Solowjew²⁰⁾.

Ich lasse nun vorerst die Krankengeschichte des von mir beobachteten Falles folgen, um dann näher auf die Eigentümlichkeiten der zu besprechenden Erkrankung und ihrer Erreger einzugehen.

I. Eigene Beobachtung.

R. P., 24-jähriger Fleischselcher, wurde am 2. Mai 1907 auf die 2. med. Abteilung aufgenommen (Protokoll No. 4834).

Aus der Anamnese ist hervorzuheben, daß der Pat., der als Fleischselcher auch mit dem Schlachten von Schweinen beschäftigt ist, seit 6 Wochen an heftigen Diarrhöen leidet, die 6—8mal täglich auftreten, von starkem Tenesmus begleitet sind und den Pat., der sonst bei recht gutem Appetit sein soll, sehr geschwächt hatten. Von früheren Erkrankungen ist bis auf eine vor einigen Wochen durchgemachte Gonorrhoe nichts bekannt.

Status praesens. Recht blasser, kräftiger Mann, zeigt weder Cyanose noch Dyspnoe. Keine Oedeme oder Exantheme, Herz und Lungen frei, Abdomen etwas aufgetrieben, weich, bei der Betastung leichtes Plätschern und Gurren in der Coecalgegend nachweisbar, Leber und Milz nicht vergrößert. Im Urin weder Eiweiß noch Zucker oder Aceton, Indican in normaler Menge.

Es werden täglich unter heftigen Kolikschmerzen 8—10 Stühle entleert. Dieselben sind dünn, von breiigflüssiger Konsistenz, alkalisch reagierend, sehr stark fäulent riechend. Die Mengen schwanken zwischen 80—300 g Feuchtkot. Makroskopisch ist zahlreicher, teils innig mit dem Stuhl gemengter, teils demselben aufsitzender Schleim nachweisbar, außerdem sind schon mit bloßem Auge Blutstreifen sichtbar.

Die mikroskopische Untersuchung des Stuhles ergibt zahlreiche Fettschollen, quergestreifte Muskelfasern; ferner Bakterien, Leukocyten und rote Blutkörperchen, Zelltetritus, Kleber und Stärkekörner. Namentlich in den schleimhaltigen Partien sieht

- 1) Virchows Arch. Bd. XXXVI. 1866. p. 285.
- 2) Nord. med. Ark. Bd. X. 1869. p. 20.
- 3) Upsala läk. förhandl. Bd. V. 1869.
- 4) Nord. med. Ark. Bd. III. 1871.
- 5) Virchows Jahresberichte. Bd. I. 1873. p. 641.
- 6) Upsala läk. förhandl. Bd. X. 1874.
- 7) Siehe Rapcewsky.
- 8) Weekblad van het nederl. Tijdschrift voor geneesk. T. I. 1884.
- 9) Wratsch. 1880. p. 505. Med. Wiestnik. 1882. p. 361.
- 10) Russ. Arch. f. allg. Pathol. 1896. p. 804.
- 11) Zentralbl. f. allg. Pathol. 1893. p. 995.
- 12) Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LI. 1894. p. 505.
- 13) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXXIII. 1893. p. 25 u. Arch. f. Verdauungskrankh. Bd. V. 1899. Heft 4.
- 14) Svenska läk. förh. 1885.
- 15) Arch. per le scienze mediche. Bd. IV. 1881. Vol. IV. p. 37.
- 16) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXXII. 1898. p. 427.
- 17) Beitr. z. pathol. Anat. Bd. XXXIII. 1903. p. 281.
- 18) Berl. klin. Wochenschr. 1891. p. 814.
- 19) Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LX. 1898. p. 363.
- 20) Zentralbl. f. Bakteriologie. Bd. XXIX. 1901. p. 821.

man zahllose, rasch bewegliche Balantidien (bis 30 im Gesichtsfeld bei schwacher Vergrößerung (Oc. 4 Reichert).

Blutuntersuchung: Hämoglobin 55 (Fleischl), rote Blutkörperchen 3 800 000, weiße Blutkörperchen 3300.

Decursus: 5. Mai. Pat. erhält täglich 30 Tropfen Opiumtinktur. Die Diarrhöen werden seltener, 4—5 pro Tag, doch sind die Parasiten in denselben noch in gleichem Maße vorhanden.

9. Mai. Pat. erhält früh 1 Eßlöffel Rizinusöl, tagsüber Eingüsse mit Eiswasser. Stühle sind konsistenter, seltener (2—3mal täglich).

20. Mai. Pat. erhält Kalomel 0,3, 2 Tage hintereinander; in den Entleerungen reichliche Mengen teils lebender zum kleinen Teil abgestorbener Parasiten.

1. Juni. Pat. bekommt neben Rizinusöl täglich 3 Eingüsse von je 300 Eiswasser, das mit Essigsäure angesäuert wird, bis zu starksaurer Reaktion. Die Stühle werden geformt, die Entleerungen seltener (1—2mal täglich).

15. Juni. Nach 14tägiger Anwendung der Säure-Eiswasserklysmen sind die Stühle regelmäßig, haben völlig normales Aussehen, im mikroskopischen Bild sind vereinzelte Fetttropfchen und quergestreifte Muskelfasern aufzufinden; vereinzelte Balantidien sind hier und da noch sichtbar.

20. Juni. Im Stuhl, der täglich einmal entleert wird, sind nur spärliche abgestorbene Parasiten nachweisbar.

Blutuntersuchung: Hämoglobin 75, rote Blutkörperchen 4 600 000, weiße Blutkörperchen 4600.

1. Juli gebessert entlassen. Nach 4 Wochen stellt sich der Pat. wieder vor. Im Stuhl sind keine Parasiten mehr nachweisbar. Pat. entzieht sich der weiteren Beobachtung.

II. Krankheitsbild.

Wenden wir uns nun auf Grund der Literatur und der eigenen Beobachtung der Beschreibung der wichtigsten Kriterien unserer Erkrankung zu, so würde in Kürze folgendes resultieren.

A. Aetiologie. Der Erreger oder jedenfalls ständiger Begleiter der Balantidienenteritis ist das *Balantidium coli*. Es gehört zu den Protozoen oder Urtieren, und zwar der Klasse der Infusorien an; diese sind dadurch charakterisiert, daß sie nach Leuckart Protozoen mit mehr oder minder konstanter Körperform mit Flimmerhaaren, welche in wechselnder Zahl und Anordnung der Körperhaut aufsitzen, sind. Das Protoplasma ist in Rinden- und Markschrift differenziert und umschließt außer einem bald einfachen, bald mehrfachen Kern noch kontraktile Vakuolen. Sie besitzen mund- und afterartige Öffnungen. Sie zerfallen wieder in Geißel- und Wimperinfusorien. Zu den letzteren gehört das *Balantidium coli*. Dasselbe hat eine Länge von 0,1—0,2 mm (Janowski), eine Breite von 0,05—0,07 mm (Peiper¹), die Rückenfläche ist stärker gewölbt als die Bauchfläche, die ganze Körperoberfläche ist mit Flimmerhaaren bedeckt, diese stehen um die Mundöffnung dichter beisammen. Die Mundöffnung ist trichterförmig eingezogen, ist ein wenig nach der Bauchseite gerichtet und führt in eine kurze Speiseröhre. Am stumpferen hinteren Leibesende ist die Afteröffnung gelegen. Im Inneren der Körpersubstanz ist meist ein bohnenförmiger Kern gelegen (Hauptkern) daneben sind noch ein oder mehrere Nebenkern vorhanden. Außerdem sind eine Anzahl (meist 2) schwach pulsierende²), kontraktile Vakuolen vorhanden (Klimenko). Die eine Vakuole liegt meist im Zentrum, die zweite gegen das Afterende zu gerichtet, häufig sind 3—4 Vakuolen vorhanden. Im Inneren des Parasiten findet man, was regelmäßig beobachtet wurde, Stärkekörner, rote und weiße Blutkörperchen und Zelldetritus. Nach der Nahrungs-

1) Tierische Parasiten. Wien 1904.

2) Die Pulsationen werden von Solowjew in Abrede gestellt.

aufnahme rundet sich die meist eiförmige Gestalt ab; beim Zerfall des Parasiten platzt erst die äußere homogene Hülle und die körnige Leibes- substanz ergießt sich nach außen. Im allgemeinen tritt der Tod des Parasiten schon nach 20—30 Minuten ein, wenn nicht entsprechende, später zu erörternde Maßregeln, getroffen werden.

Was die Fortpflanzung der Parasiten anbelangt, so erfolgt dieselbe meist durch Zweiteilung. Dieselbe geht nach Leuckart so vor sich, daß sich in der Leibesmitte (Leuckart¹⁾) ein Wimperkranz bildet, dicht vor demselben eine Einschnürung, welche tiefer greift und schließlich beide Hälften voneinander trennt, nachdem das Innere sich schon beider- seits umgestaltet hat²⁾.

Das Schwein scheint in den meisten Fällen der Träger der Balantidien zu sein. Es wird im Coecum und Kolon des Schweines gefunden und scheint dort keine pathologischen Veränderungen zu setzen. Meist sind es wahrscheinlich die encystierten Formen, welche sehr widerstandsfähig sind, mit dem Kot des Schweines in das Trink- oder Nutzwasser gelangen oder direkt von den infizierten Personen in den Darmkanal eingeführt werden. Andere Tiere außer dem Schwein scheinen gegen Balantidien refraktär zu sein. Wising und Eckerkrantz haben balantidien- haltigen Kot in den Mastdarm von Hunden (Rapcewsky, nach Reizung des Darms durch Krotonöl) und Kaninchen eingeführt, ohne eine Infektion zu erzielen. Ich selbst habe Katzen, die ja omnivor sind und so eher in ihrem Stoffwechselzustande und ihrer Bakterienflora dem Schweine ähneln, mittelst Einbringen von Balantidien in das (vorher mit Soda neutralisierte) Mageninnere, sowie durch Injektion in den After zu in- fizieren versucht, ohne ein Resultat zu erzielen³⁾. Ebensowenig ist die Züchtung der Balantidien gelungen. Weder in abgestandenem Wasser, wo andere Infusorien gedeihen, noch in Kulturflüssigkeiten, die mit Bakterien beschickt waren, um eine Symbiose zu erzielen, konnten die Parasiten längere Zeit erhalten bleiben.

B. Pathologische Anatomie. Was zunächst die Pathogenese der Krankheit, die wir Balantidium-Enteritis nennen, betrifft, so sind die Anschauungen über die Bedeutung des Erregers für die Krank- heitserscheinungen sehr geteilt. Peiper gibt drei Ansichten wieder, die einander gegenüberstehen. Während eine Reihe von Autoren, unter diesen Mitter⁴⁾, Schaudinn⁵⁾, Casagrandi und Barbagello⁶⁾ den Parasiten für einen ganz harmlosen Bewohner des Dickdarms halten, sind andere geneigt, anzunehmen, daß der Parasit nur auf krankhaft verändertem Gewebe im Darm sich ansiedeln kann. Zu dieser Gruppe von Autoren gehört Gurwitsch, Tschigajew⁷⁾, Cohnheim⁸⁾, Leuckart, Shegalow. Die dritte Gruppe von Autoren hält einen Zusammenhang zwischen dem Erreger und den Veränderungen im Dickdarm für erwiesen. Zu den letzteren gehören u. a. Malmsten, Woit, Janowski, Klimenko, Solowjew, Askanazy⁹⁾, Roos,

1) Die Parasiten des Menschen. Leipzig u. Heidelberg.

2) Häufig findet man auch encystierte Formen.

3) Anhangsweise sei hier erwähnt, daß Grassi und Calandruccio sich selbst mit Schweine-Balantidien zu infizieren versuchten, allerdings ohne Erfolg.

4) Inaug.-Diss. Kiel 1891.

5) Zentr. f. Bakt. Bd. XXV. p. 484.

6) Catania. 1896.

7) Wratsch, 1898. p. 1441.

8) Deutsch. med. Wochenschr. 1903.

9) Wiener med. Wochenschr. 1903. p. 127.

Sievers, Graziadei, Stokvis, Wising, Petersson, Lösch usw.

Was nun die pathologischen Veränderungen selbst betrifft, so sind diese in einer Anzahl von sichergestellten Fällen sehr bedeutend. Solowjew beschreibt bei seinem Patienten den Obduktionsbefund und sagt u. a.: Die Dickdarmwandungen sind verdickt, ödematös durchtränkt und blutreich. Die Schleimhaut des Kolon ist dicht besetzt mit Ulzerationen, die besonders an der Flexur und am Rektum sehr zahlreich sind. Die Größe der rundlichen Geschwüre ist etwa 1 cm im Durchmesser. Der Verlauf der Geschwürsbildung entspricht dem Querdurchmesser des Darms. Die Geschwürsränder sind verdickt, aufgelockert, von roter Farbe. Sie greifen bis auf die Submucosa und Serosa gelegentlich über; die Mesenterialdrüsen sind geschwollen. Das submuköse Gewebe ist verdickt, zum teil nekrotisch; die Blutgefäße sind stark erweitert. Eine abgestorbene Drüsenschicht begrenzt die Ulzerationen. Die Muskelfasern sind auseinandergerückt, die Spalten zwischen ihnen durch Rundzellen ausgefüllt. In den dem Geschwüre anliegenden Abschnitten der Drüsenschicht sind keine Parasiten nachweisbar; die Balantidien finden sich meist in dem verhältnismäßig gesunden Gewebe der Geschwürgsgrenzen, in der verdickten Submucosa bald einzeln, bald in großer Menge; ihre Hauptmasse liegt zwischen den Drüsen und dringt von hier in die Submucosa vor, wo sie die Veränderungen hervorrufen und weiter bis zur Muscularis gelangen. Woit beschreibt einen Fall von zur Sektion gekommenen Enteritis, die durch Balantidien bedingt war; es fanden sich im Coecum und im ganzen Kolon bis zum Ende des Rektums eine ungeheure Anzahl von Geschwüren, deren Durchmesser 1 mm bis 4 cm betrug. Doch waren Balantidien oder encystierte Formen nicht vorhanden. In der Literatur fand derselbe Autor 11 Sektionen von Balantidienenteritis. Von diesen 11 Sektionen fanden sich bei 9 Fällen Ulzerationen des Dickdarms. Auch Wising, Petersson, Lösch, Belfrage konnten in ihren zur Sektion gelangten Fällen regelmäßig Ulzerationen des Dickdarms feststellen. Genauere Beschreibungen der pathologisch-anatomischen Details verdanken wir Askanazy und Klimenko. Der erstere beschreibt Geschwüre im ganzen Kolon, die von den Solitärfollikeln auszugehen scheinen. Die histologische Untersuchung ergab, daß alle Darmwandschichten von den gleichen Veränderungen betroffen und überall Balantidien in großer Anzahl zu treffen waren, sie fanden sich in der Schleimhaut, in den Drüsenschläuchen, ja sogar im Inneren der Blutgefäße.

Klimenko findet in seinem Fall die Schleimhaut des Dickdarms geschwellt, mit Schleim bedeckt, im Kolon und Rektum Geschwüre. Auch hier fanden sich Balantidien in allen Schichten der Darmwand. Die Lympfgefäße und Kapillaren waren geradezu von ihnen verstopft. Es fanden sich Blutungen in der Submucosa, auch in diesen Blutungen Balantidien, weniger häufig in der Muscularis, dagegen zahlreich in dem Lumen der Blutgefäße.

Interessant ist, daß man das *Balantidium coli* häufig neben anderen pathologischen Darmschmarotzern und auch neben pathogenen Bakterien im Darm gefunden hat. So beschreibt Sievers einen Fall, wo neben dem *Balantidium coli* sich *Proglottiden* von *Bothriocephalus latus*, ferner *Megastoma entericum* in den Entleerungen vorfanden, Graziadei beobachtete bei den Arbeitern des Gotthardtunnels neben *Anchylostomum* noch Balantidien in den

Durchfällen, Gurwitsch fand in 4 von 6 Beobachtungen neben den Balantidien noch Bothriocephalus und Megastomen.

In allerjüngster Zeit hat Rheindorf¹⁾ über Fälle von Balantidium-enteritis berichtet, bei denen außerdem durch Flexner resp. Shiga-Kruse-Dysenteriebacillen hervorgerufene echte Dysenterie bestand. Er spricht sich auf Grund des Sektionsbefundes — es fanden sich zahlreiche Geschwüre im Dickdarm mit Balantidien in den nekrotischen Partien derselben — für den Zusammenhang zwischen Balantidium und Kolonerkrankung aus. Zu ähnlichen Schlüssen waren vorher auch Robin²⁾ 1904 auf Grund zweier Fälle, Ernrooth³⁾ und Koslowsky⁴⁾ gekommen.

Ueberblicken wir die Ergebnisse der Sektionen und halten wir uns nochmals die divergierenden Ansichten über die Pathogenität unserer Parasiten vor Augen, so müssen wir sagen, daß viele Gründe für letztere sprechen; entweder wurde den Balantidien in Fällen, die nicht zum Exitus führten oder in Fällen, wo bei der Sektion keine Balantidien gefunden wurden, die Bedeutung abgesprochen. Jedoch ist der erstere Grund wohl nicht beweisend, da ja auch ein Verschwinden der Parasiten aus dem Stuhl zusammenfallend mit dem Aufhören der Diarrhöen gefunden wurde, der zweite Grund könnte durch die Erfahrung, daß die Parasiten sehr rasch absterben und deshalb bei der Sektion nicht mehr angetroffen werden, widerlegt werden. Ein dritter Einwand, daß ja der ständige Träger der Parasiten „das Schwein“ keine pathologisch-anatomischen Veränderungen aufweist, ist gleichfalls dahin richtig zu stellen, daß der Parasit für das Schwein eben nicht pathogen ist, wie das für eine Reihe anderer Parasiten gilt, die dem einen Wirt keinen, dem anderen großen Schaden zufügen.

C. Symptomatologie. Was zunächst das Vorkommen der Krankheit anbelangt, so sind, wie schon oben erwähnt, vor allen die nördlichen Länder der Hauptsitz der Erkrankungen. Janowski beschreibt im Jahre 1898 die bis dahin publizierten Fälle (55), von diesen entfielen

auf Skandinavien	15 Fälle	auf Italien	5 Fälle
„ Rußland	16 „	„ Deutschland	3 „
„ Finnland	6 „	„ Sonst	10 „

In den letzten Jahren ist noch eine Reihe von Fällen hinzugekommen), so wurde vor Jahresfrist etwa auch der erste Fall in Oesterreich beobachtet (Keßler⁵⁾).

Die Balantidienenteritis beginnt mit Schmerzen im Leib, die von zahlreichen Entleerungen begleitet sind; die Diarrhöen sind in den meisten Fällen äußerst heftig und bringen die Patienten stark herunter⁶⁾; so magerte ein Patient von Woit in kurzer Zeit derart ab, daß sein Gewicht von 99 auf 55 kg herabging. Das Alter und Geschlecht scheint gar keine Rolle zu spielen, höchstens bezüglich der Prognose.

Die Stühle sind meist gelblich, höchst übelriechend, schleimig, manchmal blutig und enthalten häufig noch Stärkekörner, quergestreifte Muskelfasern und zahlreiche unverdaute Speisereste. Sobald die Stühle fester und geformter werden, nimmt auch der Gehalt des Kotes an Parasiten ab.

1) Berl. klin. Wochenschr. 1907.

2) Arch. f. Verdauungskrankh. Bd. X. 1904. p. 68.

3) Zeitschr. f. klin. Med. 1903. p. 321.

4) Arch. f. Verdauungskrankh. Bd. XI. 1905. p. 31.

5) Verh. d. Gesellsch. f. inn. Medizin u. Kinderheilk. in Wien 1906.

6) Strong, Biol. Laborator. Manila 1904.

Was die Dauer der Erkrankung betrifft, so läßt sich nichts sicheres darüber sagen. Der Fall von Klimenko z. B. führte, nachdem die Diarrhöen 4 Jahre bestanden hatten, zum Exitus, Befrage macht sogar die Angabe, daß sein Patient 20 Jahre an Diarrhöen gelitten habe, Henschen erwähnt eine Krankheitsdauer von 6 Jahren, andere Fälle haben eine Dauer von mehreren Wochen bis Monaten. Im Gegensatz dazu scheint es rapid verlaufende Fälle zu geben, die in 8—10 Tagen zum Exitus führen. Ein solcher genau beobachteter Fall ist der von Solowjew. Bei leichteren Fällen scheinen mit Ausnahme der Diarrhöen und der Kolikschmerzen, wie sie bei jeder Enteritis vorzukommen pflegen, keine besonderen Krankheitssymptome aufzutreten, die schweren und tödlich verlaufenden Fälle zeigen das Bild äußerster Erschöpfung und des andauernden Kräfteverfalls, der durch die Veränderungen im Dickdarm, durch die Blutungen und durch das häufig auftretende Fieber erzeugt wird. In unserem Fall war außer einer erheblichen Abmagerung, ferner einer leichten Anämie, die auch im Hämoglobinwert des Blutes und in der Zahl der roten Blutkörperchen ihren Ausdruck fand, kein besonderes Symptom nachweisbar. Auch der Urin wies keine Besonderheiten auf, während andere Autoren das Bild der parenchymatösen Nephritis und toxischen Albuminurie beobachtet und geschildert haben. Bei schweren Fällen und Auftreten von Lungenerscheinungen wird man nicht versäumen dürfen, das Sputum auf Balantidien zu untersuchen, da eine interessante Angabe von Stokvis vorliegt, der bei einem Patienten neben Balantidien im Kot auch einzelne, zum Teil tote, zum Teil lebendige Exemplare im Sputum fand. Es dürften in diesem Falle die Balantidien vom Darm aus in die Blutbahn und von da in die Lungen gekommen sein, Infarkte hervorgerufen haben, so daß man sie dann im Infarktsputum nachweisen konnte.

D. Diagnose. Die Diagnose ist, wenn man die Parasiten im Stuhle findet, leicht. Es ist ratsam, bei allen Diarrhöen, welche bei Personen, die mit Schweinen oder Exkrementen derselben in Berührung gekommen sind, auftreten, nach Balantidien zu fahnden. Es würde sich dann wahrscheinlich viel öfter die Diagnose Balantidienenteritis stellen lassen.

E. Prognose. Es gibt zweifellos leichte und schwere Fälle von Balantidienenteritis. In den ersteren machen die Parasiten fast keine Symptome und der Kräftezustand leidet wenig; in den letzteren treten rasch die oben erwähnten Entkräftungszustände auf. Von vornherein ist die Prognose in jedem Fall vorsichtig zu stellen, namentlich wenn es sich um ein älteres Individuum und um jahrelanges Leiden handelt. Quoad sanationem kann die Prognose günstig sein, wenn es auch in den meisten Fällen kaum gelingt, die Protozoen dauernd aus dem Darm zu entfernen.

F. Therapie. Die Therapie bei der Balantidienenteritis muß zwei Ziele verfolgen: einerseits der Enteritis Herr zu werden, andererseits die Erreger dauernd zu entfernen, bzw. abzutöten. Was zunächst die erste Frage anbetrifft, so wird man stopfende Mittel zunächst vermeiden, um nicht die Aufenthaltsdauer der Parasiten im Darm noch zu verlängern. Man wird im Gegenteil Abführmittel geben und diese Medikation durch lokale Maßnahmen unterstützen, um die 2. Bedingung, die Abtötung der Erreger, zu erfüllen.

Von innerlichen Mitteln ist Kalomel in kleinen Dosen mehrere Tage hindurch gegeben worden (0,05—0,1 g). Ich selbst habe von dieser

Medikation nichts gesehen, es scheint die Konzentration des Giftes im Darm zu gering zu sein, um die Balantidien abzutöten. Sublimat 1:1000 tötete die Parasiten ab, dagegen erwies es sich in der Verdünnung 1:5000 schon unwirksam. Eckerkrantz sah Besserung von innerlicher Darreichung von Karbol, Rapcewsky verordnete Natr. sulfur. und Natr. salicyl, ca. 15 täglich, und sah Heilung ohne Rezidiv. Janowski wandte Chinin. sulfur., 3×1 g täglich, an, Solowjew Tannoform, 0,5 zweistündlich, Dehio¹⁾ Extract fil. maris. aethereum.

Von lokalen Applikationen sind empfohlen worden: verdünnte Salzsäure (Malmsten), Chininklysmen (Sievers, Roos), Naphtalinklysmen (Edgren), 1 Prom. Salizylsäure in Klysmen (Rapcewsky). Henschen gibt Klysmen, die in 2 Liter Wasser 50 g Acid anticum und 5 g Tannin enthielten, mit gutem Erfolg. Ortman untersuchte die Parasiten in hängenden Tropfen nach Zusatz verschiedener chemischer Agentien und fand

nach Zusatz von	nach 45 Min.	alle Balantidien tot
$\frac{1}{2}$ Proz. NaCl		ohne Wirkung
Karlsbader Wasser		
Kaliumpermanganat 1:3000	„ 30 „	tot
Salzsäure 1:2000	„ 20 „	tot
Salzsäure 1:3000	„ 13 „	tot
Essigsäure 1:1000	„ 20 „	noch zum Teil lebendig
Acid. tannic. 1:400	„ 25 „	teilweise tot
Acid. tannic. 1:200	„ 11 „	tot
Acid. tannic. 1:100	„ 3 „	tot
Chin. sulfur. 1:2000	„ $2\frac{1}{2}$ Std.	tot
Chin. sulfur. 1:1000	„ 5 Min.	tot

Er empfiehlt auf Grund dieser Zusammenstellung folgende Kur: erst ein Reinigungsklysmen, dann wird ein Klysmen von Emser Salz 10 g auf $1\frac{1}{2}$ Liter Wasser zur Lösung des Darmschleims verabreicht, eine Stunde später ein Klysmen von $1\frac{1}{2}$ Liter, das 1 Proz. Tannin, 1 Prom. Salzsäure, 1 Prom. Chinin enthält. Trotzdem verschwanden auch in seinem Fall die Parasiten nicht vollständig.

Ich habe mit dem Stuhl des Patienten folgende Versuche angestellt:

1) 10 g Stuhl 40 ccm Aq. dest. bei 40° Temperatur gehalten	nach 6 Stunden Balantidien sind meist abgestorben vereinzelt lebend zum Teil lebend
2) 10 g Stuhl 40 ccm 0,6-proz. NaCl	
3) 10 g Stuhl 40 ccm 1-proz. Alkohol	tot
4) 10 g Stuhl 40 ccm 5-proz. Alkohol	tot
5) 10 g Stuhl 40 ccm 0,3-proz. Salzsäure	tot
6) 10 g Stuhl 40 ccm 0,4-proz. Natronlauge	lebend, beweglich
7) 10 g Stuhl 40 ccm 0,2-proz. Essigsäure	tot
8) 10 g Stuhl 40 g 1 Prom. Sublimat	nach 5 Minuten abgestorben
9) 10 g Stuhl 40 g NaCl (0,8 Proz.) abgekühlt auf 5° C.	abgestorben

1) Sitz.-Ber. d. Dorpater Naturforscher-Gesellsch. 1896.

Auf Grund dieser Befunde habe ich bei dem Patienten folgende Kur versucht: Der Darm wurde erst durch Reinigungsklysmen evacuirt, dann wurden Eiswasserleläufe 3mal täglich gemacht, welche in $1\frac{1}{2}$ Liter 6 g Essigsäure enthielten. Vorher war durch Rizinusöl die Peristaltik angeregt worden. Bei systematischer, ca. 14tägiger Behandlung kam ich so weit, daß im nunmehr geformten Stuhl nur sehr wenige abgestorbene Parasiten aufzufinden waren. Der Patient entzog sich zu frühzeitig der Kur, stellte sich aber nach 4 Wochen nach dem Spitalaustritt wieder vor und es konnten bei der dann vorgenommenen Untersuchung keine Balantidien mehr im Stuhl aufgefunden werden. Ob er dauernd balantidienfrei geblieben ist, wage ich nicht zu behaupten. Dasselbe gilt übrigens von allen anderen bisher untersuchten Fällen.

III. Experimentelles über die Balantidien.

Betrachtet man im Stuhl das *Balantidium coli*, so sieht man in seinem Inneren rote Blutkörperchen, Zelldetritus, Leukocyten und Stärkekörner. Es lag nun nahe, etwas über die Fermente bzw. Toxine des Parasiten kennen zu lernen, welche ihn in den Stand setzen, aus dem Eiweiß und Hämoglobin des Blutes, ferner aus der Stärke seine Leibessubstanz aufzubauen. Die Untersuchung erstreckte sich somit zunächst auf das Vorhandensein von proteolytischen, diastatischen und hämolytischen Substanzen in der Leibessubstanz der Parasiten.

1. Proteolytisches Ferment.

Schwierigkeiten boten sich zunächst dar, eine halbwegs reine Balantidienaufschwemmung zu erhalten. Nach zahlreichen Vorversuchen bewährte sich folgendes Verfahren am besten: Der frische Stuhl wurde mit der 10-fachen Menge 0,4-proz. Sodalösung versetzt und sofort in die Wärme (40°) gebracht. Es bildeten sich nun 2 Schichten, eine dicke untere, welche die kompakten Bestandteile des Kotes enthielt und eine flüssige obere, in welcher sich die leichteren Anteile befanden. Die Balantidien stiegen nach einiger Zeit in die Höhe und konnten aus der obersten Schicht leicht abgehoben werden. Die oberste Schicht wurde nun wiederum mit 0,4-proz. Sodalösung versetzt und abermals senkten sich die Stuhlbestandteile zu Boden, während die ziemlich klare darüberstehende Flüssigkeit die Balantidien enthielt; diese wurde abgehebert, dann abzentrifugiert, der Rückstand beim Zentrifugieren in Kochsalz (0,6 Proz.) aufgenommen. Er enthielt fast ausschließlich Balantidienleiber, die aber, wenn nicht sehr rasch gearbeitet wurde, in Auflösung gingen. Der in Kochsalz aufgenommene Rückstand wurde zur Prüfung des proteolytischen Ferments verwendet.

Eiweißlösung	Bal.-Extrakt	Kochsalz 0,6 Proz.	Verdaut
5 ccm	0,1 ccm	0,9 ccm	—
5 "	0,2 "	0,8 "	—
5 "	0,3 "	0,7 "	—
5 "	0,5 "	0,5 "	—
5 "	1,0 "	0	—
5 "	—	1 ccm	—

Ein proteolytisches Ferment konnte somit nicht nachgewiesen werden. Dasselbe negative Resultat erhielt ich bei saurer Reaktion und bei Verwendung von Fibrin einer-, Peptonlösungen als Verdauungssubstrat andererseits.

2. Diastatisches Ferment.

Zu einer 2-proz. Stärkelösung wurde der Balantidium-Extrakt hinzugefügt, 24^h in Brutofen belassen und dann die Reduktion bestimmt.

	Stärke	Bal.-Extrakt	Kochsalz 0,6 Proz.	Reduktion
I.	5 ccm	0,1 ccm	0,9 ccm	vorhanden
II.	5 "	0,2 "	0,8 "	"
III.	5 "	0,3 "	0,7 "	"
IV.	5 "	0,5 "	0,5 "	"
V.	5 "	1,0 "	0 "	"
Kontrolle	5 "	0 "	1 ccm	fehlt

Die Reduktion war äußerst stark, trat schon nach 2 Stunden auf und nach 24 Stunden war selbst in den Proben mit sehr geringen Balantidienmengen keine Jodreaktion mehr nachweisbar.

Um den Einwand, daß es sich vielleicht um das diastatische Pankreasferment handelte, das in Spuren in den Kot übergegangen wäre, zurückzuweisen, wurden Stühle von Fällen mit schwerer Enteritis auf das Vorhandensein einer Diastase geprüft, sämtlich mit negativem Erfolg.

Es scheint also in den Balantidienleibern ein sehr kräftig wirkendes stärkeverzuckerndes Ferment wirksam zu sein. Analoge Angaben sind im übrigen für andere Parasiten gemacht.

Wenn es gelänge, die Balantidien in Reinzucht, eventuell auf stärkehaltigen Nährböden zu kultivieren, könnte man freilich mit mehr Sicherheit die Existenz einer Diastase behaupten, als es mir möglich ist.

3. Hämolyse. Die in der beschriebenen Weise hergestellten Balantidienextrakte wurden nun nach der üblichen Methode auf hämolysische Substanzen untersucht. Zum Nachweis wurde Menschen-, Hunde- und Kaninchenblut verwendet. Alle drei Blutarten wurden von den Extrakten hämolysiert. Die Versuche wurden so angestellt, daß gleiche Quantitäten Blutaufschwemmung (5 Proz.) mit wechselnden Quantitäten Balantidienextrakten versetzt, 3 Stunden bei 40° und dann 24^h in der Kälte belassen wurden. Ich führe einen hierhergehörigen Versuch an

Bal.-Extrakt	Kochsalz 0,6 Proz.	Blut 5 Proz.	Hämolyse
1 ccm	—	1 ccm	+
0,75 "	0,25 ccm	1 "	+
0,50 "	0,50 "	1 "	+
0,20 "	0,80 "	1 "	+
0,10 "	0,90 "	1 "	—
0,05 "	0,95 "	1 "	—
0,01 "	0,99 "	1 "	—

Es scheint sich hier um ein ziemlich kräftig wirkendes Hämolyisin zu handeln, ein Befund, der für die Pathologie der Erkrankung nicht gleichgültig ist; wird ja bei diesen Dysenterien sehr häufig eine beträchtliche Anämie vorgefunden, die sich aus dem Stoffwechsel der Balantidien selbst, wenn keine Darmblutungen beständen, ungezwungen erklären ließe. Den Einwand, daß es sich hier um Bakterien bzw. aus dem Pankreassekret stammende Hämolysine handelte, möchte ich durch folgende Bemerkungen widerlegen: Das Pankreashämolyisin tritt nur bei Gegenwart von anderen proteolytischen Pankreasfermenten auf; da in unserem Fall das Fehlen eines solchen nachgewiesen ist, so ist das Vorhandensein eines Pankreashämolysins wenig wahrscheinlich. Bezüglich des eventuellen Bakterienhämolysins habe ich Kontrollversuche mit den Stühlen von an Colitis leidenden Kranken angestellt, ohne daß es mir

bisher gelungen wäre, mehr als eine Spur hämolytischer Wirksamkeit zu finden.

4. Spezifische Sera gegen Balantidien. Vor kurzem hat Röbke¹⁾ gezeigt, daß es durch Immunisierung mit Reinzuchten von Protozoen gelingt, ein Serum zu erhalten, das die Protozoen toxisch beeinflußt, d. h. in einen Lähmungszustand von kürzerer oder längerer Dauer versetzt. An dieser Lähmung beteiligen sich bei seinen Versuchsobjekten (*Paramaecium caudatum*) zunächst nur die Wimpern der Oberfläche, später die kontraktilen Vakuolen, endlich auch die undulierende Membran des Cytostoms. Nach der Lähmung kommt es zu einem Klebrigwerden der Cilien und zwar tritt keine gewöhnliche Agglutination ein, wie bei Bakterien, sondern nur eine analoge Erscheinung. Es kleben nämlich die Paramäcien nicht aneinander fest, sondern sie haften am Glase, an Bakterienhaufen oder an anderen in der Aufschwemmung vorhandenen Lebewesen. Röbke konnte den Unterschied zwischen Normal- und Immunserum am besten bei etwa 20-facher Verdünnung der Sera nachweisen, da unverdünntes Normalserum die Protozoen wahrscheinlich aus Gründen osmotischer Natur schädigt.

Ich habe nun zunächst versucht im Serum unseres Patienten diese lähmenden Substanzen nachzuweisen. Es ist mir nicht gelungen. Im Serum des Patienten verhielten sich die Balantidien wie in physiologischer Kochsalzlösung. Daher versuchte ich nun nach dem Vorgange von Röbke Kaninchen mit Aufschwemmungen von Balantidien zu immunisieren. Kaninchen I erhielt am

12. Juni 5 ccm Balantidien-Aufschwemmung intraperitoneal

16. Juni 5 " " " "

19. Juni 10 " " " "

21. Juni Blutentnahme I.

1. Juli 4 ccm B.-A.

9. Juli 5 ccm B.-A.

17. Juli getötet und entblutet II.

Die Versuche wurden nun so angestellt, daß in je ein Uhrschälchen 5 ccm der Balantidiensuspension kamen, die in den Brutschrank gestellt wurden. Zu jedem Schälchen wurden einerseits 10 Tropfen Normalserum, andererseits 5 Tropfen Immunserum hinzugefügt, so daß etwa eine 10-fache Verdünnung resultierte. Von 5 zu 5 Minuten wurden Proben entnommen und bei schwacher Vergrößerung mikroskopisch untersucht. Es zeigte sich nun, daß bei den mit normalem Kaninchen-serum beschickten Aufschwemmungen die Balantidien innerhalb 5 Minuten ihre Bewegungen verlangsamten, aber nach und nach wieder aufnahmen, so daß nach etwa 15 Minuten die Beweglichkeit wieder voll hergestellt war. Anders verhielt es sich im Immunserum. Zuerst trat hier, wie auch Röbke bei *Paramaecium caudatum* gesehen hat, eine Beschleunigung der Bewegung ein, das dauert etwa 5 Minuten, dann wurden die Bewegungen immer langsamer, die Protoplasmasubstanz rundete sich ab, wurde kugelförmig und die Balantidien standen wie angeklebt still, nur die Mundgeißeln bewegten sich noch eine Zeitlang weiter. Dann nach weiteren 5 Minuten kam es auch zum Sistieren der Geißelbewegung, die Vakuolen wurden größer, die äußere Membran platzte und der Inhalt ergoß sich nach außen. Nach 10—15 Minuten waren die meisten Balantidien abgetötet, vereinzelte lagen gelähmt da, einige erholten sich

1) Arch. f. Hygiene. Bd. LIV. 1905. p. 1.

noch wieder. Der Unterschied zwischen normalem und Immunserum war derart eklatant, daß man dieses mit vollem Recht ein spezifisches Serum nennen kann, das nur auf die Ciliaten einzuwirken vermag. Diese Beobachtung, die hier für das *Balantidium coli* das erstemal gemacht worden ist, erscheint nicht ohne Interesse. Laveran und Mesnil¹⁾ haben für Trypanosomen eine Agglomeration durch Immunserum von Ratten nachgewiesen. Da die Trypanosomen aber lange in der Bauchhöhle des immunen Tieres am Leben blieben, so haben wir keine Veranlassung in diesen durch Immunisierung auftretenden Antikörpern paralyzierender oder agglomerierender Natur etwa Schutzstoffe gegen die eingedrungenen Protozoen zu sehen. Auch mit Rücksicht darauf, daß die natürliche Erwerbung der Parasiten, wie bei unserem Parasiten das Auftreten von paralyzierenden Antikörpern im Blute nicht zur Folge hat, darf man dem Vorhandensein solcher im Immunserum vorkommender spezifischer Antikörper teleologisch keine allzugroße Bedeutung beilegen.

Nachdruck verboten.

Monostomum vicarium n. sp.

[Aus dem Zoologischen Museum zu Königsberg Pr.]

Von Tierarzt **Alfred Arnsdorff**, Königsberg Pr.

Mit 2 Abbildungen.

Ende Februar 1908 überließ mir Herr Geheimrat Braun eine Anzahl Monostomiden zwecks genauerer Untersuchung. Dieselben waren von dem Lehrer und Ornithologen Hantzsch (Dresden-Plauen) in NO. Labrador (Killinek) gesammelt worden (14. Sept. 1906) und stammten aus den Eingeweiden von *Arquatella maritima maritima*. Da jedoch als Wohnsitz für diejenigen Monostomiden, zu der die vorliegende Art gehört, nur die freien Körperhöhlen bekannt sind, so ist anzunehmen, daß sich auch diese Exemplare nicht in, sondern zwischen den Eingeweiden des obengenannten Wirtes werden vorgefunden haben, also wohl in den Luftsäcken.

Die oberflächliche Untersuchung der 23 vorliegenden Exemplare zeigte, daß sie zu der Gattung *Monostomum* s. str. (*Cyclocoelum* Brandes) gehören.

Die Länge der von mir untersuchten Exemplare schwankt zwischen 10,5—14,4 mm, bei einer größten Breite von 3,0—3,1 mm.

Der Körper ist undurchsichtig, abgeflacht, die Ventralfläche eben, die Dorsalfläche meist etwas gewölbt. Von dem schmälern Vorderende divergieren die seitlichen Körperlinien nach hinten bis zur Höhe der Hoden. Von hier aus verlaufen sie bogenförmig und vereinigen sich hinter dem hinteren Hoden zu dem gut abgerundeten breiten Körperende. Die Körperoberfläche ist quer gerunzelt. Die Runzeln sind nicht durchgehend, sondern konfluieren miteinander. Am Rande erscheinen sie, im optischen Schnitt, in Form von Papillen, die nicht nur von der Cuticula,

1) Ann. de l'Inst. Pasteur. Bd. XV. 1901. p. 690.

sondern auch von der Subcuticularschicht gebildet werden, unter deren Basis die Längsmuskulatur glatt hinwegzieht.

Die Mundöffnung ist fast terminal gelegen. Der stark muskulöse Pharynx besitzt längsovale Gestalt mit einem Längsdurchmesser von 0,46 mm und einem Breitendurchmesser von 0,27 mm. Die Dicke seiner Wandungen beträgt 0,13 mm. Der auf ihn folgende Oesophagus gabelt sich in einer Entfernung von etwa 0,64 in die beiden Darmschenkel, welche ihrerseits nahe den Seitenwänden des Körpers und parallel zu denselben nach hinten ziehen und im äußersten Körperende bogenförmig ineinander übergehen; Seitenäste oder Blindsäcke besitzen sie nicht. Die keimbereitenden Organe des Tieres sind in dem verbreiterten Hinterende gelegen. Der zuhinterst gelegene Hoden besitzt längsovale, bzw. bohnenförmige Gestalt mit einem Längsdurchmesser von 1,19 mm und einem Breitendurchmesser von 0,732 mm; er liegt in der Medianlinie des Körpers, seine vordere Begrenzung reicht nahezu an den Dottergang heran.

Der vordere Hoden besitzt kugelige Gestalt mit einem Durchmesser von 0,835—0,878 mm; er ist weiter nach vorne gelagert und weicht nach links von der Medianlinie des Körpers ab, so daß seine laterale Grenze nahezu an den Innenrand des linken Darmschenkels heranreicht. Rechts von der Mittellinie des Körpers und ungefähr zwischen vorderem und hinterem Hoden ist das kuglige Ovarium, 0,4026 mm im Durchmesser, gelegen. Zwischen ihm und dem vorderen Rand des hinteren Hodens befindet sich das verhältnismäßig kleine Receptaculum seminis.

Die Dotterstöcke bestehen aus zahlreichen ungefähr gleichgroßen Follikeln. Sie verlaufen zwischen Körperrand und Darmschenkel und parallel zu denselben. Vorn beginnen sie bei allen Exemplaren ein wenig hinter der Darmteilungsstelle und reichen entweder bis in das äußerste Körperende, oder enden kurz vorher. Sie ziehen von Anfang bis zu Ende in gleicher Breite dahin. Die quergelagerten langen Uterusschlingen reichen zuweilen, besonders hinten bis unter die Darmschenkel, während sie weiter vorne zwischen den Darmschenkeln verbleiben und schließlich in den gerade verlaufenden Endteil des Uterus übergehen. Die gemeinschaftliche Genitalöffnung ist dicht hinter dem Pharynx gelegen. Der keulenförmige Cirrusbeutel ist rechts vom Oesophagus gelagert und reicht vom Genitalporus bis fast an den rechten Darmbogen heran. Die Eier sind sehr zahlreich, besitzen elliptische Gestalt und sind 0,1020 mm lang und 0,068 mm breit; die reifen enthalten ein bereits entwickeltes, an den schwarzen Augenflecken erkennbares, Miracidium.

Ein Vergleich der vorliegenden Art mit den von Stossich gegebenen Beschreibungen und Abbildungen der verschiedenen Arten von *Cyclocoelum* ergibt eine große Ähnlichkeit mit *Cyclocoelum problematicum* Stoss., jedoch auch, abgesehen von dem verschiedenen Fundort der beiden Arten, erhebliche Unterschiede in der Gesamtgröße der Parasiten, der Ausdehnung des Cirrusbeutels und in der Größe der Eier.

Nach den Angaben von Stossich wurde *Cyclocoelum problematicum* bisher nur in Aegypten gefunden und zwar in den Luftsäcken von *Totanus calidris* und in der Bruthöhle von *Totanus glottis*. Die Länge seiner Exemplare gibt Stossich mit 17,0—18,5 mm, ihre Breite mit 2,5—4,0 mm an. Der Cirrusbeutel reicht nach seinen

Angaben bis an den rechten Darmschenkel heran, was ich bei keinem meiner Exemplare gesehen habe. Schließlich zeigen sich erhebliche Unterschiede in der Eigröße, die Stossich mit 0,135:0,084 mm angibt.

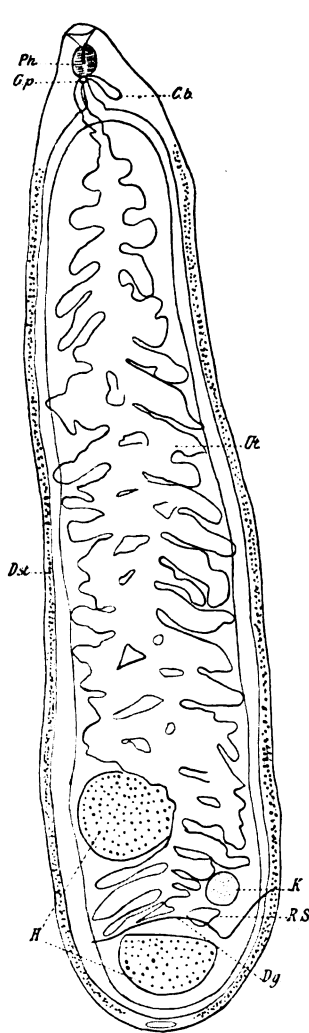


Fig. 1.

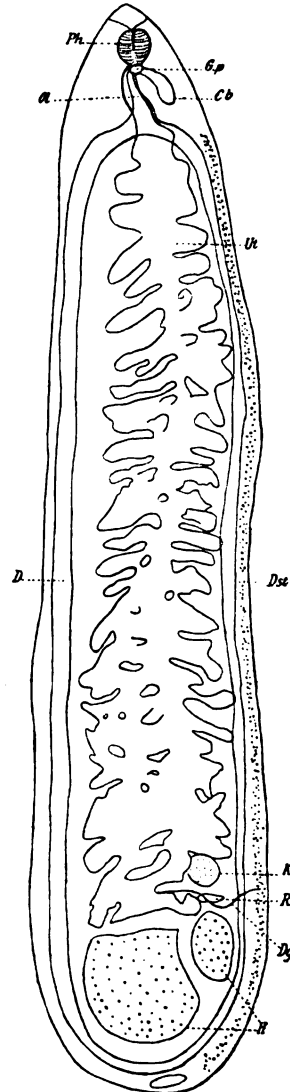


Fig. 2.

Beide Abbildungen stellen aus dem Rücken liegende Exemplare von *Monostomum vicarium* n. sp. bei 6-facher Vergrößerung dar. Figur 1 ein normales Exemplar, Figur 2 das mit dem einseitig entwickelten Dotterstock.

Die Buchstaben bedeuten: Cb Cirrusbeutel, D Darm, Dg Dottergang, Dst Dotterstock, Gp Genitalporus, H Hoden, K Keimstock, Os Oesophagus, Ph Pharynx, RS Recept. seminis, Ut Uterus.

Obwohl weitere genaue Maßangaben, wie Größenverhältnisse der Hoden, des Eierstocks, des Pharynx und des Oesophagus vollkommen fehlen, und andererseits durch einen einfachen Vergleich der von Stossich gegebenen Abbildungen mit meinen Exemplaren eine Identität nicht zu beweisen ist, so glaube ich dennoch, daß die oben angeführten Differenzen gegen eine solche Identifizierung sprechen, und die von mir beschriebene Art als eine neue, selbständige anzusprechen ist, die ich
Monostomum vicarium

zu nennen vorschlage.

Zum Schluß will ich noch auf ein Exemplar eingehen, welches eine bemerkenswerte Abweichung in der Ausbildung des Dotterstockes und in der Gestalt und der Lage der männlichen Keimdrüsen aufwies. — Der Dotterstock ist bei diesem Exemplar nur auf der rechten Körperseite entwickelt, während auf der linken keine Spuren des Organs nachzuweisen sind. Die Dotterstocksfollikel bilden einen gleichbreiten Strang, der wie bei den normalen Tieren vorn in der Höhe der Darmteilungsstelle beginnt, längs des Körpers nach hinten verläuft und bis in das hinterste Körperende reicht. Eine stärkere Entwicklung dieser seitlichen Zone ist nicht nachzuweisen.

Dem absoluten Fehlen von Dotterstocksfollikeln auf der anderen Körperseite entspricht auch das Fehlen des linken Dotterganges.

Eine derartige anormale Ausbildung nur eines Dotterstockes auf der einen Körperseite bei vollkommenem Fehlen von Dotterstocksfollikeln auf der anderen Seite findet sich in der einschlägigen Literatur meines Wissens bisher nicht vermerkt.

Normalerweise ist die Ausbildung nur eines seitlichen Dotterstockes bei *Distomum heterolecithodes* Braun anzutreffen.

Was die Ausbildung der männlichen Keimdrüsen bei diesem Exemplar anbelangt, so sind dieselben zwar wie bei den übrigen in der Zweizahl vorhanden, jedoch abgesehen von der geringeren Größe, welche der vordere Hoden aufweist, ist derselbe anstatt wie bei den übrigen Exemplaren auf der linken, auf der rechten Seite und bedeutend weiter nach hinten, nämlich unmittelbar hinter dem Dottergange gelegen, so daß ich anfänglich im Zweifel war, ob es sich tatsächlich um den allerdings stark verkleinerten und verlagerten vorderen Hoden oder um das nur stark gefüllte Receptaculum seminis handelte. Die Größe dieses vorderen Hodens, welcher eine ovale Gestalt aufweist, beträgt 0,549 im Breiten- und 0,7869 im Längsdurchmesser.

Er ist von dem hinteren Hoden durch einen Zwischenraum von 0,1832 mm getrennt.

Im Gegensatz zum vorderen Hoden zeigt der in seiner normalen Lage verbliebene hintere Hoden eine stärkere Ausbildung gegenüber normalen Exemplaren. Er besitzt die Gestalt eines breiten Keiles, dessen Spitze nach dem Keimstock zeigt, während die hintere bogenförmige und abgerundete Begrenzung nach dem medialen Rand der Verbindungsstelle der beiden Darmschenkel gerichtet ist. Sein Durchmesser beträgt 1,60 : 1,33 mm.

Die Lage der übrigen Teile der Genitalorgane, sowie vor allem sämtliche Größenverhältnisse des Tieres, stimmen mit den zuvor beschriebenen Exemplaren vollkommen überein.

Literatur.

- 1) 1899 Jacoby, S., Beiträge zur Kenntnis einiger Distomen. [Inaug.-Diss.] (Archiv f. Naturgesch. 1900. Bd. I.)
- 2) 1902 Stossich, M., Il Monostomum mutabile Zeder e le sue forme affini. (Boll. Soc. adriat. sc. nat. Trieste. Vol. XXI. 1901.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Beeinflussung des hämolytischen Komplements durch Injektion Leukocytose erregender Mittel (Hetol und Hefenukleinsäure).

[Aus der Bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts in Berlin.]

Von Privatdozent Dr. W. Busse, Assistent der Frauenklinik in Jena.

In Bd. 29, No. 18 des Centralblattes für Bakteriologie und Parasitenkunde erwähnt Bulloch, daß „durch Injektion von 0,5 g Natr. cinnamic. die hervorgebrachte Leukocytose mit einer entschiedenen Erhöhung der Menge des Komplements verbunden war, aber keine Zunahme des Immunkörpers sich zeigte. Da nach Injektion von Natrium cinnamic. die Leukocytose hauptsächlich polynukleär ist, so wird es wahrscheinlich, wie schon früher geäußert wurde, daß die Leukocyten das Komplement zubereiten. Bei einem zweiten Kaninchen trat dieselbe Wirkung wieder ein.“

Diese Angabe Bullochs nachzuprüfen, war deshalb von besonderem Interesse, weil die Anhänger der Hetolbehandlung bei Tuberkulose die nach ihren Angaben sicher vorhandene günstige Beeinflussung des Prozesses resp. Heilung durch die Steigerung des Komplementes erklären und daraus weitere Theorien für die Heilungsmöglichkeit ableiten.

Zudem würden sich auch eine Reihe von wichtigen Schlüssen für die Behandlung anderer Krankheiten ungezwungen ableiten lassen, wenn die Hyperleukocytose, welche Bulloch als das Wesentliche ansieht, zur Komplementvermehrung führte.

Es waren also neben den Hetolinjektionen noch andere positiv leukotaktische Mittel zu prüfen, und von diesen wurde als das sicherste und unschädlichste Hefenukleinsäure genommen.

Außer der eben genannten Angabe von Bulloch finde ich in einer Arbeit von Paul Theodor Müller: „Ueber den Einfluß künstlicher Stoffwechselalterationen auf die Produktion der Antikörper“ im 51. Band des Archivs für Hygiene den Einfluß von durch Hetolinjektionen erzeugter Hyperleukocytose auf die Agglutininproduktion beschrieben: Er fand unter 14 Versuchen, in denen meist 3 Injektionen von je 2—4 ccm einer 5-proz. Hetolemulsion in Eigelb vorgenommen wurden, 11mal sehr deutliche Steigerung der Agglutininproduktion (Durchschnitt 3,1mal soviel Agglutinin wie bei den Kontrolltieren), in 2 Fällen fand sich keine Veränderung¹⁾.

1) Die übrige Literatur über die Beziehungen zwischen Leukocytose und Schutzkräften des Blutes habe ich genauer in einer im Archiv für Gynäkologie. Bd. LXXXV. Heft 1 erschienenen Arbeit: „Die Leukocytose, eine Schutzvorrichtung des Körpers gegen Infektion“ behandelt, so daß ich mich hier mit diesem Hinweis begnügen kann.

Zur Methodik ist zu bemerken, daß die Versuche an Kaninchen angestellt wurden. Es wurde so verfahren, daß vor der Injektion zunächst die Anzahl der Leukocyten in bekannter Weise festgestellt wurde, indem aus der Ohrvene des Tieres Blut in den Schüttelmischer bis zur Marke 1, dann bis zur Marke 11 die $\frac{1}{10}$ -proz. Essigsäure angesaugt, die Flüssigkeit gut umgeschüttelt und der 4. Tropfen auf die Türkische Zählkammer gebracht wurde. Nach dem Erscheinen der Newtonschen Farbenringe wurde gezählt und zwar die ganzen 144 Felder mittlerer Größe, um möglichst genaue Werte zu erhalten. Von den am Rande liegenden Elementen wurden nur die linken und oberen berücksichtigt. Die Art der Berechnung setze ich als bekannt voraus.

Sodann wurde ein genügendes Quantum Blut zur Komplementbestimmung der Vene entnommen, sogleich die frisch bereitete Hetol- etc. Lösung intraperitoneal injiziert und die Kontrollzählungen von Zeit zu Zeit an Blut aus der Ohrvene in der gleichen Weise, wie oben geschildert, vorgenommen.

Zu den Injektionen wurde in der einen Reihe von Versuchen 0,5 g Hetol in 10 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung gelöst und durch 3maliges Aufkochen sterilisiert, in der Parallelreihe 0,05 Acid. nuclein. in der gleichen Weise gelöst und nach Neutralisieren sterilisiert, genommen.

Die Tiere überstanden sämtlich ohne jeden Schaden die Injektionen.

Bei der Beobachtung zeigte sich nun zunächst, daß die Leukocytenwerte beim Kaninchen in weiten Grenzen schwanken. Der höchste Wert vor der Injektion betrug 23 000, der niedrigste 6000; die einzelnen Werte sind in den Protokollen verzeichnet.

Ferner trat auch der Eintritt der Hyperleukocytose zeitlich recht verschieden auf; so war in einem Falle nach $1\frac{1}{2}$ Stunden noch eine Leukopenie vorhanden, in anderen schon eine Steigerung auf das Vierfache.

Meist zeigte sich nach 3—4 Stunden eine starke Hyperleukocytose.

Der Verlauf der Reaktion ist der gewöhnliche, zunächst mehr oder minder ausgesprochene Verminderung der Leukocyten, sodann Steigerung, die nach 3—5 Stunden ihren Höhepunkt erreichte und nach 24 Stunden verschwunden war. Worauf mehrere Male die erwähnten, auffallend hohen Anfangswerte bei nicht behandelten Tieren zurückzuführen sind, ist mir nicht bekannt.

Nach Feststellung der Leukocytenzahl wurde dann zum zweiten Male Blut entnommen und zwar einmal im Stadium der Hyperleukocytose, in einer zweiten Reihe von Fällen nach dem Abklingen dieser, endlich auch im Stadium der Leukopenie, in der Annahme, daß nach dem Verschwinden der Leukocytenvermehrung die Vermehrung des Komplements als Ausdruck der stattgehabten Sekretion nachzuweisen sein mußte.

Die Methodik der hämolytischen Versuche war die übliche, die Versuche wurden mit verschiedenen, vorher genau ausgewerteten Ambozeptoren angestellt und zur Vermeidung von Fehlerquellen die 5-proz. Ziegenblutaufschwemmung sehr sorgfältig (8mal) gewaschen, um jede Spur von Serum zu entfernen und damit alle durch Präzipitationsvorgänge zwischen dem durch Injektion von Ziegenblut beim Kaninchen hergestellten Ambozeptor und der eventuell noch Spuren von Serum enthaltenden 5-proz. Ziegenblutaufschwemmung möglichen Fehlerquellen auszuschließen.

Die Röhrchen wurden nach 2-stündigem Aufenthalt im Thermostaten in den Eisschrank gestellt und nach 24 Stunden die Resultate abgelesen.

In jedem Falle wurden größere Reihen angesetzt, da sich die feineren qualitativen Unterschiede nicht nur um den Wert der kompletten Hämolyse, sondern eher noch bei den Farbentönen der nicht vollständigen Lösung zeigten. Es wurden jedesmal im Reagensglasgestell untereinander die mit entsprechenden Komplementmengen versetzten Röhrchen des vor

und nach der Injektion gewonnenen Serums plaziert, um sofort den Vergleich zu haben.

Die Ergebnisse sind die folgenden:

Zunächst die mit Hetol angestellten Reihen, daneben diejenigen mit Nukleinsäure als Parallelversuche.

Von Kaninchen I (grau) wurde 12⁴⁵ a. m. vor der Injektion die Leukocytenzahl 6000 festgestellt, dann 1^h 0,5 Hetol intraperitoneal injiziert, 5^h ergab die Zählung 22 000, es wurde Blut entnommen.

1) Hämolytischer Versuch (Hetol)
(5-proz. Ziegenblutaufschwemmung 1,0
Ambozeptor E. 0,3^{1/10} (Ziegenblutkaninchen).

Komplement Kaninchenserum.

Vor und nach der Hetolinjektion

6000 : 22000 Leukocyten.

Komplement	Hämolyse	
	vorher	nachher
0,8	stark	stark
0,6	"	"
0,4	"	"
0,3	"	"
0,25	"	"
0,2	"	"
0,17	sehr stark	sehr stark
0,13	"	"
0,1	"	"
0,8 ^{1/10}	"	fast komplett
0,6 ^{1/10}	fast komplett	komplett
0,4 ^{1/10}	komplett	komplett
0,3 ^{1/10}	fast komplett	fast komplett
0,25 ^{1/10}	stark	stark
0,2 ^{1/10}	mäßig	mäßig
0,17 ^{1/10}	Spur	Spur
0,13 ^{1/10}	minim. Spur	minim. Spur
0,1 ^{1/10}	"	"

1) Parallelversuch
Kaninchen II
(mit 0,05 Hefenukleinsäure in 10 NaCl
aufgeschwemmt).

Komplement Kaninchenserum.

Vor 12 000, nach 58 000 Leukocyten.

Komplement	Hämolyse	
	vorher	nachher
0,6	fast komplett	sehr stark
0,4	"	"
0,3	"	"
0,25	"	"
0,2	"	"
0,17	"	"
0,13	komplett	fast komplett
0,1	fast komplett	"
0,8 ^{1/10}	"	"
0,6 ^{1/10}	"	"
0,4 ^{1/10}	"	"
0,3 ^{1/10}	stark	stark
0,25 ^{1/10}	gering	gering
0,2 ^{1/10}	0	0
0,17 ^{1/10}	0	0
0,13 ^{1/10}	0	0
0,1 ^{1/10}	0	0

Aus dem vorstehenden Protokoll ist zunächst eine Hemmung der Hämolyse in den Dosen 0,8 bis 0,6^{1/10} vorhanden, während der nächste Wert vollständige Lösung gibt. Es ist dies ein Phänomen, welches Professor Morgenroth, wie er mir mitteilte, öfters beobachtet hat.

Sodann sieht man bei der Komplementmenge 0,6^{1/10} vorher die Lösung fast, nachher ganz komplett, also einen sehr geringen Unterschied zugunsten der stärkeren Leukocytose gegenüber einer Leukocytenvermehrung von 3^{2/3} des ursprünglichen Wertes.

Im Parallelversuch mit Nukleinsäure ist trotz starker Leukocytose zunächst ein durchgehend etwas geringerer Komplettwert des Komplementes nach der Injektion vorhanden, während die untere Grenze die gleiche ist.

Das oben hervorgehobene Phänomen zeigte sich auch hier.

Derselbe Versuch wurde an zwei weiteren Kaninchen angestellt.

2) Parallelversuch
mit 0,05 Hefenukleinsäure.
Komplement Kaninchenserum. Vor 12 600,
nach 60 000 Leukocyten.

Komplement	Hämolyse	
	vorher	nachher
0,5	komplett	komplett
0,25	"	"
0,15	stark	stark
0,1	mäßig	mäßig
0,5 ^{1/10}	minim. Spur	minim. Spur
0,25 ^{1/10}	0	0

2) Hämolytischer Versuch (Hetol)
5-proz. Ziegenblutaufschwemmung.
0,3^{1/100} Ambozeptor C (Ziegenblutkaninchen)
Komplement Kaninchen grau. Vor 6900,
nach 47 500 Leukocyten.

Komplement	Hämolyse	
	vorher	nachher
0,5	komplett	komplett
0,25	"	"
0,15	stark	stark
0,1	mäßig	mäßig
0,5 ^{1/10}	Spur	Spur

2) Parallelversuch
mit 0,05 Hefenukleinsäure.
Komplement Kaninchenserum. Vor 12600,
nach 60000 Leukocyten.

Komplement	Hämolyse vorher	nachher
0,15 ¹ / ₁₀	0	0
0,1 ¹ / ₁₀	0	0
0,5 ¹ / ₁₀₀	0	0
0,25 ¹ / ₁₀₀	0	0
0,15 ¹ / ₁₀₀	0	0
0,1 ¹ / ₁₀₀	0	0

2) Hämolytischer Versuch (Hetol)
5-proz. Ziegenblutaufschwemmung.
0,3¹/₁₀₀ Ambozeptor C (Ziegenblutkaninchen)
Komplement Kaninchen grau. Vor 6900,
nach 47500 Leukocyten.

Komplement	Hämolyse vorher	nachher
	minim. Spur	Spur
0,25 ¹ / ₁₀	keine	minim. Spur
0,15 ¹ / ₁₀	0	0
0,1 ¹ / ₁₀	0	0
0,5 ¹ / ₁₀₀	0	0
0,25 ¹ / ₁₀₀	0	0
0,15 ¹ / ₁₀₀	0	0
0,1 ¹ / ₁₀₀	0	0

Auch in diesem Protokolle findet sich ein sehr geringer Unterschied zugunsten der stärkeren Leukocytose gegenüber einer Leukocytenvermehrung von 6900:47500, also 6,9mal. Der untere Grenzwert ist von 0,25¹/₁₀ vor der Injektion auf 0,15¹/₁₀ nach dieser verschoben.

Der Parallelversuch mit Hefenukleinsäure zeigt trotz starker Zunahme der Leukocyten absolute Uebereinstimmung der Komplementmengen. Ein weiterer Versuch nahm genau denselben Verlauf.

3. Versuch mit Hetol.

5-proz. Ziegenblutaufschwemmung.

Ambozeptor E. 0,2¹/₁₀ (Ziegenblutkaninchen).

Komplement Kaninchenserum. Vor 8000, nach 14000 Leukocyten.

Komplement	Hämolyse vorher	nachher
0,8	komplett	komplett
0,6	"	"
0,4	"	"
0,3	"	"
0,25	"	fast komplett
0,2	"	"komplett"
0,17	"	"komplett"
0,13	"	"
0,1	"	"
0,8 ¹ / ₁₀	stark	stark
0,6 ¹ / ₁₀	mäßig	mäßig
0,4 ¹ / ₁₀	"	Spur
0,3 ¹ / ₁₀	Spur	"
0,25 ¹ / ₁₀	"	"
0,2 ¹ / ₁₀	minimale Spur	0
0,17 ¹ / ₁₀	0	00
0,13 ¹ / ₁₀	00	00
0,1 ¹ / ₁₀	000	000

In den Werten 0,25 und 0,2 nach der Injektion besteht keine vollständige Lösung, bei 0,4¹/₁₀ ist ebenso wie bei 0,2¹/₁₀ vor der Injektion die größere Komplementmenge.

Die zweite Reihe von Beobachtungen umfaßt solche, bei denen die Hyperleukocytose bereits wieder verschwunden ist, mit meist nach 24 Stunden entnommenem Komplement (siehe Tabelle p. 370).

In diesem Versuch zeigt gleichfalls die Komplementmenge nach dem Abklingen der Leukocytose eine ganz geringe Vermehrung.

Ein weiterer, mit demselben Serum, aber anderem Ambozeptor angestellter Versuch hatte genau das gleiche Resultat.

Im Parallelversuch findet sich genau dasselbe Resultat. Auch hier ergab eine mit demselben Serum und anderem Ambozeptor angestellte Kontrolle das gleiche Verhalten.

4) Parallelversuch.
Komplement Kaninchen grau. Vor 6900,
nach 5300 Leukocyten.

Komplement	Hämolyse vorher	nachher
0,5	komplett	komplett
0,25	"	"
0,15	"	"
0,1	mäßig	mäßig
$0,5^{1/10}$	Spur	Spur
$0,25^{1/10}$	minim. Spur	"
$0,15^{1/10}$	0	minimal. Spur
$0,1^{1/10}$	0	"
$0,5^{1/100}$	0	0
$0,25^{1/100}$	0	0
$0,15^{1/100}$	0	0
$0,1^{1/100}$	0	0

4) Hämolytischer Versuch.
5-proz. Ziegenblutaufschwemmung.
0,1 Ambozeptor H. K. II (Hammelnblut-
kaninchen).

Komplement	Hämolyse vorher	nachher
Komplement Kaninchen gelb. Vor 12600, nach 11400 Leukocyten.		
0,5	fast komplett	fast komplett
0,25	"	"
0,15	stark	stark
$1,0^{1/10}$	mäßig	mäßig
$0,5^{1/10}$	Spur	Spur
$0,25^{1/10}$	0	minim. Spur
$0,1^{1/10}$	0	0

Zwei weitere Versuche betreffen das Verhalten des Komplements im Stadium einer geringen Leukopenie, nach 3 Stunden.

5) Parallelversuch.
Komplement Kaninchenserum. Vor 10100,
nach 8700 Leukocyten.

Komplement	Hämolyse vorher	nachher
0,6	komplett	komplett
0,4	"	fast komplett
0,3	"	"
0,25	"	"
0,2	"	"
0,17	fast komplett	stark
0,13	"	"
0,1	"	"
$0,8^{1/10}$	stark	mäßig
$0,6^{1/10}$	"	"
$0,4^{1/10}$	mäßig	"
$0,3^{1/10}$	"	"
$0,25^{1/10}$	"	Spur
$0,2^{1/10}$	Spur	"
$0,17^{1/10}$	"	minim. Spur
$0,13^{1/10}$	0	"
$0,1^{1/10}$	0	"

5) Hämolytischer Versuch.
5-proz. Ziegenblutaufschwemmung.
Amboceptor E. $0,2^{1/10}$ (Ziegenblutkaninchen)
Komplement Kaninchenserum. Vor 23000,
nach 19 000 Leukocyten.

Komplement	Hämolyse vorher	nachher
0,6	sehr stark	fast komplett
0,4	"	"
0,3	stark	"
0,25	"	sehr stark
0,2	mäßig	stark
0,17	Spur	mäßig
0,13	"	Spur
0,1	"	"
$0,8^{1/10}$	keine	keine
$0,6^{1/10}$	"	"
$0,4^{1/10}$	"	"
$0,3^{1/10}$	"	"
$0,25^{1/10}$	"	"
$0,2^{1/10}$	"	"
$0,17^{1/10}$	"	"
$0,13^{1/10}$	"	"
$0,1^{1/10}$	"	"

Dieser Versuch zeigt deutliche Steigerung des Komplements bis 0,17, während die untere Grenze einer vorhandenen Lösung die gleiche ist.

Der Parallelversuch zeigt von 0,4 bis $0,2^{1/10}$ eine geringe Abnahme des Komplementes im Stadium der Leukopenie, während an der unteren Grenze noch Spuren von Lösung vorhanden sind nach der Injektion, wenn bei dem vorher entnommenen Blut diese schon aufgehört hat.

6. Versuch.

5-proz. Ziegenblutaufschwemmung.
Amboceptor E. $0,2^{1/10}$ (Ziegenblutkaninchen).
Komplement Kaninchenserum. Vor 15500, nach 13300 Leukocyten.

Komplement	Hämolyse vorher	nachher
0,8	komplett	komplett
0,6	"	"
0,4	"	"
0,3	"	"
0,25	"	"

6. Versuch.

5-proz. Ziegenblutaufschwemmung.
Ambozeptor E. $0,2^{1/10}$ (Ziegenblutkaninchen).
Komplement Kaninchenserum. Vor 15 500, nach 13 300 Leukocyten.

	Hämolyse	
	vorher	nachher
Komplement		
0,2	komplett	komplett
0,17	"	sehr stark
0,13	"	"
0,1	"	stark
$0,8^{1/10}$	"	mäßig
$0,6^{1/10}$	fast komplett	Spur
$0,4^{1/10}$	stark	0
$0,3^{1/10}$	mäßig	0
$0,25^{1/10}$	gering	0
$0,2^{1/10}$	Spur	0
$0,17^{1/10}$	0	0
$0,13^{1/10}$	0	0
$0,1^{1/10}$	0	0

Dieser Versuch zeigt trotz geringer Differenz der Leukocytenzahl eine durchgehende Verminderung der Komplementmenge nach der Injektion, die sich in so stark ausgesprochenem Maße bisher bei keinem Versuche gezeigt hat. Die komplett lösende Dosis ist von $0,8^{1/10}$ auf $0,2$ herabgegangen, die minimale Dosis von $0,2^{1/10}$ auf $0,6^{1/10}$.

Der letzte Versuch betrifft ein Kaninchen, bei dem das Serum im Stadium der gleichen oder doch fast gleichen Leukocytenzahl entnommen wurde nach $5\frac{1}{2}$ h.

7. Versuch.

5-proz. Ziegenblutaufschwemmung.
Ambozeptor C. $0,3^{1/100}$ (Ziegenblutkaninchen).
Komplement Kaninchenserum. Vor 10 000, nach 11 000 Leukocyten.

	Hämolyse	
	vorher	nachher
Komplement		
0,6	komplett	komplett
0,4	"	"
0,3	"	"
0,25	"	"
0,2	"	"
0,17	"	"
0,13	"	"
0,1	"	"
$0,8^{1/10}$	"	"
$0,6^{1/10}$	"	"
$0,4^{1/10}$	stark	"
$0,3^{1/10}$	mäßig	"
$0,25^{1/10}$	gering	gering
$0,2^{1/10}$	Spur	Spur
$0,17^{1/10}$	"	"
$0,13^{1/10}$	minimale Spur	minimale Spur
$0,1^{1/10}$	keine	keine

Auch in diesem Falle zeigt das Serum nach der Hetolinjektion eine geringe Zunahme der Komplementmenge in den Werten $0,4^{1/10}$, $0,3^{1/10}$, während die unteren Werte die gleichen sind.

Wenn ich die Resultate der vorliegenden Versuche kurz resumiere, so ergibt sich folgendes, zunächst nach Hetolinjektionen:

Im Stadium der Hyperleukocytose zeigt sich a) bei starker Leukocytose sehr geringe Zunahme des Komplementes in Versuch 1 und 2, b) bei mäßiger Leukocytose teils Zunahme, teils Abnahme in Versuch 3.

Im Stadium des Gleichgewichtes a) nach 24 Stunden geringe Zunahme bei Versuch 4., b) nach 5 $\frac{1}{2}$ Stunden ebenso bei Versuch 7.

Im Stadium der Leukopenie Zunahme bei Versuch 5, ausgesprochene Abnahme bei Versuch 6.

Bei den Versuchen mit Nukleinsäure findet sich a) bei starker Leukocytose Abnahme in Versuch 1, Gleichgewicht in Versuch 2.

Im Stadium der gleichen Leukocytenzahl Zunahme in Versuch 4; endlich im Stadium der Leukopenie teils Zunahme, teils Abnahme in Versuch 5.

Die Differenzen in den Werten sind jedoch — mit Ausnahme von Hetolversuch 6, welcher bei sehr geringer Leukopenie deutliche Komplementabnahme zeigt — so gering, daß man wohl nicht von einer derartigen Beeinflussung der hämolytischen Komplementmenge weder bei Hyperleukocytose noch bei Leukopenie wird sprechen können, daß dadurch die klinisch nachgewiesene Wirkung der Injektionen erklärt wird. Vielmehr neige ich dazu, die Resultate für bedingt durch Gleichgewichtsschwankungen zu halten. Nach dem Ausfall der Versuchsreihe halte ich eine Beeinflussung des hämolytischen Komplementes durch Injektion von Hetol und Hefenukleinsäure und so erzeugte Hyperleukocytose nicht für erwiesen. Eine Beeinflussung des bakteriolytischen Komplementes ist nach dem Ausfall dieser Versuche gleichfalls wenig wahrscheinlich.

Herrn Professor Morgenroth danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und seine Unterstützung bei der Anfertigung.

Nachdruck verboten.

Hämagglutination und Hämolyse.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Budapest (Direktor Prof. L. v. Liebermann).]

Von **L. v. Liebermann.**

Vor kurzem hat M. v. Eisler¹⁾ die Frage diskutiert, ob die Hämagglutination und Hämolyse, durch Ricin und Hämolysin hervorgerufen, eine Säurewirkung sei? — wie ich das angeblich behauptet hätte. Er kommt zu dem Resultat, daß man es hier nicht mit Säurewirkungen zu tun hat. Dieses stimmt aber vollständig mit meinen Angaben und Vorstellungen, und es ist nur ein Mißverständnis, wenn v. Eisler annimmt, daß ich die gegenteilige Ansicht vertrete, also, um mich der in der Chemie jetzt gebräuchlichen Ausdrucksweise zu bedienen, etwa angenommen hätte, daß die verschiedensten Säuren, insofern sie nur bezüglich ihrer H-Ionenkonzentration gleich sind, in gleichem Maße agglutinierend oder hämolytisch wirksam wären.

Das, was ich ausgesprochen habe, ist davon durchaus verschieden, und nichts anderes als das, daß der agglutinierende Bestandteil des Ricins eine Säure, der thermostabile Immunkörper in dem von mir untersuchten Serum gegen Schweineblutkörperchen immunisierter Kaninchen gleichfalls eine Säure oder ein Gemenge von Säuren sein dürfte.

Aber nirgends habe ich von einer Säurewirkung im allgemeinen gesprochen.

1) Dieses Centralblatt. Bd. XLVI. Heft 4. p. 353.

Wenn noch irgend ein Zweifel bezüglich meiner Auffassung bestünde, so würde er durch meinen auch von v. Eisler zitierten Ausspruch, daß die Verbindung der Blutkörperchen mit stärkeren Säuren einen ganz anderen Charakter haben dürfte, als die Ricin-Stromaverbindung, beseitigt werden, denn es ist ja mithin klar, daß ich das Gewicht nicht auf die Wasserstoffionen des Ricins, sondern auf die Natur des Säurerestes und auf die eigentümliche Beschaffenheit der Ricin-Stromaverbindung gelegt habe, welche ganz anderer Natur ist, als die Verbindung des Stromas mit irgend einem anderen Säurerest, z. B. einer starken Mineralsäure, der eine solche Eigenschaft, die Blutkörperchen stark zu verkleben, mangelt. Es muß an dieser Stelle noch auf ein anderes Mißverständnis hingewiesen werden. — v. Eisler sagt im Anschluß an obiges Zitat (p. 356) folgendes:

„Schwächere Säuren, die dem Ricin entsprechen, haben aber, wie gezeigt wurde, überhaupt keinen Einfluß auf Blut, so daß durch den Nachweis einer schwachen Säure im Ricin und ihrer Bindung an die Blutzellen noch keine genügende Erklärung des Agglutinationsvermögens geboten wird.“

Das Mißverständnis besteht darin, daß v. Eisler den Ausdruck „schwache Säure“ nicht in dem Sinne anwendet, wie er in der Chemie gebräuchlich ist. Er nennt verdünnte Salzsäure (er hat mit solcher gearbeitet) eine schwache Säure. Tatsächlich sind aber verdünnte Mineralsäuren, wie Salzsäure, keine schwachen Säuren.

Schwache Säuren sind bekanntlich solche, welche in ihren wässerigen Lösungen nur in geringem Grade dissoziieren. Es wäre also auch der Schluß, daß eine Salzsäure, welche titrimetrisch irgend einer anderen, wirklich schwachen Säure — sagen wir z. B. Ricin — entspricht, dieser auch in ihrer Wirkung gleich sein müßte — abgesehen von allem anderen, von mir oben vorgebrachten — durchaus nicht gestattet. Selbstverständlich muß auch nicht jede wirklich schwache Säure agglutinierend wirken, sondern diese Wirkung hängt ganz von der Natur dieser Säure ab.

Ich will nur noch folgenden Ausspruch, der sich auf p. 310 meiner im Archiv f. Hygiene abgedruckten Arbeit findet, anführen: Auch bei hämolytischen Seris befördert eine Vermehrung des Alkali die Agglutination, eine Verminderung desselben eher die Hämolyse, ohne daß man aber, wie auch hier betont werden soll, sagen dürfte, daß Säuren überhaupt keine Agglutination bewirken würden¹⁾. (Hier folgen dann Versuche mit Salzsäure, ähnlich denen v. Eislers.)

Wenn ich also, wie man aus diesem Zitat sieht, besonders betone, daß man auf Grund alles dessen, was ich vorgebracht hatte, nicht glauben soll, daß Säuren (Mineralsäuren und andere) überhaupt keine Agglutination bewirken könnten, so ist es doch klar, daß ich nie der Meinung sein konnte, die Ricinwirkung wäre eine pure Säurewirkung. Das hätte doch keinen Sinn! Ich stelle mir also vor, daß der agglutinierende Bestandteil des Ricins die Stromahämoglobinverbindung zersetzt und sich mit dem Stroma verbindet. Diese Verbindung hat eine eigentümliche klebrige Beschaffenheit und bewirkt, daß die sich senkenden Blutkörperchen fest aneinander kleben. Das freigewordene Hämoglobin (die Zersetzung findet anfangs nur an der Oberfläche der Blutkörperchen statt und liefert also verhältnismäßig nur wenig davon) wird vom Koa-

1) Im Original nicht gesperrt gedruckt.

Im Stadium des Gleichgewichtes a) nach 24 Stunden geringe Zunahme bei Versuch 4., b) nach 5½ Stunden ebenso bei Versuch 7.

Im Stadium der Leukopenie Zunahme bei Versuch 5., ausgesprochene Abnahme bei Versuch 6.

Bei den Versuchen mit Nukleinsäure findet sich a) bei starker Leukocytose Abnahme in Versuch 1, Gleichgewicht in Versuch 2.

Im Stadium der gleichen Leukocytenzahl Zunahme in Versuch 4; endlich im Stadium der Leukopenie teils Zunahme, teils Abnahme in Versuch 5.

Die Differenzen in den Werten sind jedoch — mit Ausnahme von Hetolversuch 6, welcher bei sehr geringer Leukopenie deutliche Komplementabnahme zeigt — so gering, daß man wohl nicht von einer derartigen Beeinflussung der hämolytischen Komplementmenge weder bei Hyperleukocytose noch bei Leukopenie wird sprechen können, daß dadurch die klinisch nachgewiesene Wirkung der Injektionen erklärt wird. Vielmehr neige ich dazu, die Resultate für bedingt durch Gleichgewichtsschwankungen zu halten. Nach dem Ausfall der Versuchsreihe halte ich eine Beeinflussung des hämolytischen Komplementes durch Injektion von Hetol und Hefenukleinsäure und so erzeugte Hyperleukocytose nicht für erwiesen. Eine Beeinflussung des bakteriolytischen Komplementes ist nach dem Ausfall dieser Versuche gleichfalls wenig wahrscheinlich.

Herrn Professor Morgenroth danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und seine Unterstützung bei der Anfertigung.

Nachdruck verboten.

Hämagglutination und Hämolyse.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Budapest (Direktor Prof. L. v. Liebermann).]

Von L. v. Liebermann.

Vor kurzem hat M. v. Eisler¹⁾ die Frage diskutiert, ob die Hämagglutination und Hämolyse, durch Ricin und Hämolysin hervorgerufen, eine Säurewirkung sei? — wie ich das angeblich behauptet hätte. Er kommt zu dem Resultat, daß man es hier nicht mit Säurewirkungen zu tun hat. Dieses stimmt aber vollständig mit meinen Angaben und Vorstellungen, und es ist nur ein Mißverständnis, wenn v. Eisler annimmt, daß ich die gegenteilige Ansicht vertrete, also, um mich der in der Chemie jetzt gebräuchlichen Ausdrucksweise zu bedienen, etwa angenommen hätte, daß die verschiedensten Säuren, insofern sie nur bezüglich ihrer H-Ionen-Konzentration gleich sind, in gleichem Maße agglutinierend oder hämolytisch wirksam wären.

Das, was ich ausgesprochen habe, ist davon durchaus verschieden, und nichts anderes als das, daß der agglutinierende Bestandteil des Ricins eine Säure, der thermostabile Immunkörper des von mir untersuchten Serum gegen Schweineblutkörperchen, und ein Gemisch von beiden gleichfalls eine Säure oder ein Gemenge von Säuren ist.

Aber nirgends habe ich von einer Säure ausgesprochen.

1) Dieses Centralblatt. Bd. XLVI.

ntes
daß
ung,
twas
gen
rft.
die
als
anz
uß
cht
ten

en

gulum eingeschlossen und kann nur langsam in die umgebende Flüssigkeit diffundieren. — Bei diesem Vorgang tritt also das Ricin an die Stelle des Hämoglobins und da letzteres ein säureartiger Körper ist und solches vom Ricinagglutinin durch meine Versuche doch zum mindesten sehr wahrscheinlich gemacht ist, so ist es gestattet, zu sagen, daß in der neuentstandenen Verbindung das Stroma die Base, das Ricinagglutinin aber die Säure vorstellt. Aber es ist der Säurerest des Ricinagglutinins, welcher da eine Rolle spielt (oder das ganze Molekül, falls es sich um eine additionelle Verbindung handeln sollte), nicht aber das den Säurecharakter einer Substanz bedingende Wasserstoff-Ion.

Mit anderen Worten: Die agglutinierende Wirkung des Ricinagglutinins ist keine allgemeine Säurewirkung, sondern die Wirkung gerade dieser Säure, die aber mit dem Stroma, gleich anderen Säuren, eine salzartige Verbindung, jedoch von anderen physikalischen Eigenschaften erzeugt.

Dem entspricht auch, daß die Gegenwart von Alkali die Ricinagglutination nicht aufhebt, wie ich gefunden habe und wie das auch v. Eisler ganz richtig hervorhebt. Bei Gegenwart von Alkali wird es sich vielleicht um eine doppelte Umsetzung zwischen Ricin-Alkali und Stroma-Hämoglobin handeln. Ganz ähnlich scheinen die Verhältnisse bei der Kieselsäure (Landsteiner) und kiesel-sauren Salzen (Siegfried) zu liegen. Daß der Mechanismus des Agglutinationsvorganges meinen Vorstellungen entspricht, geht, wie ich das in meinen oben zitierten Abhandlungen sehr weitläufig erörtert habe, auch daraus hervor, daß die Agglutination stets von Hämolyse, d. h. von einem mehr oder weniger intensiven Austritt von Hämoglobin, begleitet ist, und ich kann v. Eisler nicht Recht geben, wenn er sagt, daß dies für die Ricinagglutination nicht behauptet werden kann.

Ich erlaube mir, auf meine Arbeit über Beziehungen zwischen Hämagglutination und Hämolyse hinzuweisen¹⁾, in welcher dieser Gegenstand eingehend erörtert und mit quantitativen Versuchen gezeigt wird, daß das Ricin hämolytisch wirkt und in entsprechender Menge verwendet, auch zu kompletter Hämolyse führt. Hierüber ist weiter kein Wort zu verlieren.

Man möge doch 2 ccm einer 5-proz. Kaninchen-, Rinder- oder Schweineblutkörperchen-Emulsion mit 2 Tropfen einer 1-proz., filtrierten (natürlich mit physiol. Kochsalzlösung bereiteten) Ricinlösung versetzen, bei nur kräftiger Agglutination stehen lassen, die agglutinierte Masse dann kräftig zerschütteln und zentrifugieren, und man wird kräftige Hämolyse konstatieren. Zerschüttelt und zentrifugiert man nochmals, so ist die Hämolyse entweder komplett oder nahezu komplett.

Es bliebe, was das Ricin anbelangt, nur noch eine Frage zu erörtern. Ist man berechtigt, wie ich das getan habe, anzunehmen, daß es gerade der säureartige Bestandteil des Ricins ist, welcher die Agglutination bewirkt?

Meine Gründe dafür sind folgende:

Ich habe erstens nachgewiesen, daß der saure Bestandteil bei der Ricinagglutination von den Blutkörperchen zurückgehalten wird und daß sich dieses Agglutinin von den Blutkörperchen mit Hilfe stärkerer Säuren wieder abspalten läßt.

Zweitens habe ich bei einer anderen Gelegenheit schon früher ge-

1) Arch. f. Hyg., Bd. LXII. p. 290 ff.

zeigt, daß von den beiden bekannten Bestandteilen des Ricins — dem agglutinierenden und dem von allgemein toxischer Wirkung — bei der Agglutination nur der eine, nicht aber auch der andere, allgemein toxische, zurückgehalten wird¹⁾.

Trotzdem wäre es ja möglich, daß noch etwas anderes, Unbekanntes im Ricin steckt, dem die agglutinierende Wirkung zukommt, und daß die Bindung des sauren Bestandteiles nur eine mitlaufende Erscheinung, sozusagen eine Zufälligkeit ist. Aber ich denke nicht, daß man so etwas ohne zureichende Gründe behaupten und auf Grund einer solchen vagen Annahme eine doch immerhin plausible Ansicht zurückweisen dürfte.

In derselben soeben zitierten Arbeit habe ich auch gezeigt, daß die Agglutination nicht als einfacher physikalischer Vorgang, sondern als chemische Reaktion aufzufassen ist. Blutkörperchen binden nur ganz bestimmte Ricin-Agglutininmengen und schon ein geringer Ueberschuß bleibt unverbunden. Dies und manches andere, worauf ich hier nicht eingehen kann, veranlaßt mich, bei der Agglutination nicht an einen einfachen Adsorptionsvorgang zu denken.

Dies will aber nicht sagen, daß ich mich in einem unüberbrückbaren Gegensatz zu Landsteiners Auffassung befände, der ja, wie ich meine, als erster versucht hat, unter Anwendung chemisch wohlcharakterisierter Stoffe eine Erklärung des Agglutinationsvorganges zu geben. Ich glaube nur, daß die Gesetze, die die Adsorptionserscheinungen beherrschen, doch noch zu wenig bekannt sind, um es nicht gerechtfertigt erscheinen zu lassen, eine gewisse Zurückhaltung zu beobachten. Ich denke mir aber, daß es ganz gut möglich ist, daß in gewissen Fällen, zu denen vielleicht auch das Agglutinationsphänomen gehört, die Absorption eine Vorbedingung für die weitere chemische Reaktion sein kann.

Ich glaube mich hierin auch in ziemlicher Uebereinstimmung mit Landsteiners Ansichten zu befinden, der, obwohl er die Adsorption stark betont (ebenso wie v. Eisler l. c. p. 354), doch annimmt, daß „die Verbindungen der Immunkörper im allgemeinen auf der Entstehung salztartiger Kombinationen amphoterer Kolloide beruhen“. (S. Landsteiner und Stanković, d. Centralbl. Bd. XLI. p. 108.) Der Unterschied in den beiderseitigen Auffassungen scheint nur darin zu bestehen, daß ich über die Körper, die an dieser salztartigen Kombinationen teilnehmen, und über den Mechanismus der Agglutination bestimmtere Vorstellungen entwickelt habe.

Wenn aber v. Eisler glaubt, daß ich gegen die Annahme irgend etwas einzuwenden hätte, daß bei dem Agglutinationsvorgang (wie er durch Serumagglutinine, Ricin, Abrin u. dergl. hervorgerufen wird) amphotere Kolloide die aufeinander wirkenden Substanzen sind (Landsteiner), und mir weiter zumutet, daß ich diese Wirkung gerade nur der Säure als solcher zuschreibe, so ist das eben dem Irrtum zuzuschreiben, der sich durch die ganze Mitteilung v. Eislers hinzieht, schon oben richtig gestellt wurde und noch weiter beleuchtet werden soll.

Daß man in den Fällen wie die obenerwähnten in erster Linie an Körper kolloidaler Natur denken muß, liegt auf der Hand, und warum gerade ich, der ich vor 10 Jahren mit St. Bugaronsky und, wie ich glaube, zum ersten Male, unter Anwendung einwandfreier physikalisch-chemischer Methoden bewiesen habe, daß **Proteine sowohl Säuren**

1) S. meine Arbeit: Sind Toxine Fermente? (Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 33.)

als Basen binden, also amphotere Kolloide sind¹⁾ — mich dagegen sträuben sollte, ihnen bei der Entstehung einer salzartigen Verbindung, wie sie Landsteiner und ich annehmen, eine solche Rolle zuzuschreiben, wäre unbegreiflich. Man wird auch zugeben müssen, daß die mir durch v. Eisler zuteil gewordene Belehrung in betreff der Zulässigkeit, die Proteine als amphotere Verbindungen (mit dem Vermögen, sowohl Säuren als Basen zu binden) aufzufassen, gerade mir gegenüber nicht am Platze war.

Zur Vermeidung von Mißverständnissen, die in unserer so schnell lesenden und schnell arbeitenden Zeit nur zu leicht möglich sind, will ich ausdrücklich bemerken, daß die Frage, wie Agglutination im allgemeinen zustande kommt, von der anderen, welche Stoffe sich in speziellen Fällen (z. B. bei der Agglutination durch Immunsorum) an dem Vorgange beteiligen, strenge zu trennen ist, denn man weiß ja, daß so manche, auch nicht kolloide Stoffe agglutinierend wirken können, an die im speziellen Falle nicht gedacht werden kann. Natürlich schließt solches die Aehnlichkeit des Mechanismus in beiden Fällen nicht aus. — Mit einer Erkenntnis des Mechanismus ist das Agglutinationsproblem natürlich nicht erschöpft, denn zur Erklärung der auffallendsten Erscheinung, die in der Verklebung der Zellen besteht, muß immer angenommen werden, daß an ihrer Oberfläche Körper von klebriger Beschaffenheit entstanden sind. Ob diese nun als Produkte einer wirklichen chemischen Reaktion oder einer Auflockerung von Kolloiden aufzufassen seien, ist zunächst gleichgültig. Daran, daß, wie schon Gruber erkannt hat, wirklich klebrige Stoffe entstehen, kann niemand zweifeln, der die Agglutination lebender Bakterien, wie z. B. Typhusbacillen, unter dem Mikroskop beobachtet und gesehen hat, wie die sich lebhaft bewegenden Bakterien, wenn sie an andere stoßen, hängen bleiben und sich gleich Fliegen auf einer Leimrute eine Zeitlang vergeblich bemühen, sich loszumachen, bis sie endlich unbeweglich werden.

Im zweiten Teile seiner Mitteilung befaßt sich v. Eisler mit meinen Vorstellungen über die Wirkung der hämolytischen Sera.

Es wiederholt sich hier dasselbe Mißverständnis in betreff der von mir nie behaupteten Säurewirkung. Wirkung eines Körpers, den ich für einen säurehaltigen halte, und **Säurewirkung** sind zwei verschiedene Dinge, die v. Eisler nicht auseinanderhält.

Insoweit sich also v. Eislers Ausführungen auf eine angebliche Säurewirkung der Immunsustanzen beziehen, finden sie im Vorhergesagten ihre Richtigstellung.

Anders verhält es sich mit der Zumutung, ich hätte mich bemüht, nun meine für die Ricinagglutination gewonnenen Anschauungen auch auf hämolytische Sera zu übertragen und diese mit der Hämolyse, wie sie z. B. durch Blutkörperchen-Immunsorum zustande kommt, in eine Linie zu setzen.

Das grade Gegenteil ist der Fall. Auf p. 309 meiner zitierten Arbeiten sage ich in bezug auf inaktivierte Immunsora: „Im Gefolge der Agglutination tritt, wenn auch schwache Hämolyse auf, die aber nur

1) Bugaronsky und Liebermann, Ueber das Bindungsvermögen eiweißartiger Körper für Salzsäure, Natriumhydroxyd und Kochsalz. (Pflügers Archiv. Bd. LXXII. 1898. p. 51.) Ausführlich wiedergegeben z. B. in Hamburgers Lehrbuch „Der osmotische Druck“ etc. II. 332 ff. 508. 510. Das Säureverbindungsvermögen allein wurde schon vorher durch Työqvist und C. Cohnheim festgestellt.

dann (aber auch nicht immer) etwas ausgesprochener erscheint, wenn man größere Mengen und kräftige Sera verwendet und unter öfterem Umschütteln im Thermostaten hält.“

„Eine gewisse Aehnlichkeit zwischen dieser und der agglutinierenden Wirkung von Ricin und Kieselsäure besteht also wahrscheinlich, aber sie wäre allein nicht so groß, um aus ihr weitergehende Schlüsse zu ziehen.“ —

Auf p. 328 aber sage ich folgendes:

„Meine Versuche über die Wirkungsweise der hämolytischen Kaninchenserum auf Schweineblutkörperchen hatten ergeben, daß das in ihnen befindliche Agglutinin nicht genügt, um ihre bedeutende hämolytische Wirkung zu erklären.“ Es ist also sicher, daß ich die hämolytische Wirkung eines aktiven Immunserums nicht als Folge der Agglutination aufgefaßt habe, sondern als einen wesentlich anderen Prozeß, über den ich mich ja sehr ausführlich geäußert habe. Es ist dabei für die vorliegende Richtigstellung unwesentlich, ob ich Agglutinin und hämolytischen Immunkörper für identisch halte. Ich habe mich über diesen Gegenstand nirgends mit Bestimmtheit ausgesprochen, weil mir noch gewisse Zweifel geblieben waren.

Hingegen wäre ich geneigt, v. Eisler recht zu geben, wenn er sagt, daß meine Beobachtung, daß aktives hämolytisches Serum durch Zusatz einer bestimmten Menge von Alkali inaktiviert wird, anders gedeutet werden kann, als wie man es nach einer Äußerung von mir auf p. 314 tun würde. Wahrscheinlich richtet sich nämlich die Wirkung des Alkali nicht nur gegen den Immunkörper, sondern auch, und vielleicht noch mehr, gegen das Komplement.

Diese durch die Versuche v. Eislers sehr gestützte Auffassung war mir übrigens, nachdem ich meine sämtlichen Versuche niedergeschrieben und publiziert hatte, schon gewissermaßen vertraut, denn ich hatte ja gefunden und in meiner letzten Arbeit über hämolytische Komplemente etc. auf p. 332—333 mitgeteilt, daß auch Seifenlösungen von Alkalilaugen inaktiviert werden, ganz so wie Blutserum. Da aber Noguchi und ich, unabhängig voneinander, die Ansicht ausgesprochen haben, daß die Seifen des Blutserums, oder besser gesagt, die durch gewisse Serumbestandteile ihrer unmittelbaren hämolytischen Wirkung beraubten Serumseifen, die Rolle von Komplementen spielen können, ist es natürlich, ja selbstverständlich, daß meine schließliche Auffassung die war, daß ein Zusatz von Alkali höchst wahrscheinlich vor allem das Komplement inaktiviert.

Daß sich aber diese Wirkung des Alkali auch auf den als schwache Säure gedachten Immunkörper erstrecken und seine Reaktion auf Blutkörperchen verlangsamen könne, ist nicht von der Hand zu weisen. Für eine Verlangsamung der Reaktion zwischen Immunkörper und Blutkörperchen, oder sonst eine, wenn auch geringfügige, Schädigung des Immunkörpers sprechen auch die von v. Eisler mitgeteilten Versuche, denn der Ambozeptor wurde nach seinen Versuchen in alkalischen Medien doch nicht so vollständig gebunden wie in neutralen, was v. Eisler mit der Hypothese, daß daran die quellende Wirkung des Alkali schuld trägt, erklären will.

Zum Schlusse möchte ich mir gestatten, zum besseren Verständnis meiner Auffassung folgendes zu erwähnen:

Man darf nicht von der irrigen Ansicht ausgehen, die Wirkung der Immunkörper wäre eine allgemeine Säurewirkung, nicht aber die

Wirkung eines als schwache Säure gedachten Körpers von besonderen Eigenschaften, wie letzteres ich vermute. Es wäre das ebenso verkehrt, als wenn man die fällende Wirkung der Schwefelsäure auf Bariumsalze als eine Säurewirkung im allgemeinen, nicht aber als die spezifische Wirkung gerade der Schwefelsäure selbst auffassen wollte, die ja auch dann eintritt, wenn sie nicht als freie Säure, sondern als Sulfat vorhanden ist.

Der Immunkörper kann also auch dann seine Wirkung entfalten, wenn er als salzartige Verbindung zugegen ist.

Man darf aber hinwiederum nicht glauben, es wäre ausgeschlossen, daß der Immunkörper, wenn er als salzartige Verbindung zugegen ist, nicht auch als freie Säure eine Verbindung (z. B. mit den Blutkörperchen) eingehen könnte, denn die Salze schwacher (schwach dissoziierender) Säuren sind in ihren wässrigen Lösungen bekanntlich stark hydrolysiert. Dies läßt sich z. B. mit alkalisch reagierenden Seifenlösungen sehr schön zeigen. Schüttelt man solche mit Petroleumäther aus, so enthält der Rückstand des letzteren freie Fettsäuren. Steigert man die Menge des Alkali in der Seifenlösung, so wird die Ausbeute an freien Fettsäuren immer geringer, aber auch weit mehr Alkali als theoretisch zur Neutralisation der Fettsäuren notwendig wäre, verhindert das Uebertreten freier Fettsäuren in den Petroleumäther nicht vollständig.

Zusammenfassung des Inhalts.

- 1) Verfasser beweist, daß er die Wirkung des Ricins und der Immunkörper nicht für eine allgemeine Säurewirkung, sondern für die Wirkung gewisser Substanzen hält, die er für Säuren ansieht.
 - 2) Es wird abermals gezeigt, daß das Ricin hämolytisch wirkt. Die Hämolyse ist eine Konsequenz der Agglutination.
 - 3) Die Hämolyse durch hämolytisches Serum ist, wie Verf. stets erklärt hat, kein dem obigen analoger Vorgang.
 - 4) Betrachtungen über die Agglutination. Landsteiners und des Verfassers Vorstellungen.
 - 5) Die inaktivierende Wirkung von Laugen richtet sich in erster Linie gegen das Komplement, aber auch gegen die Wirkung des Immunkörpers.
 - 6) Bemerkung über das Verhalten hydrolysierender Salze, insbesondere der Seifen.
-

Nachdruck verboten.

Berichtigung zu E. Levy: Bemerkung zu der Arbeit von J. Kentzler „Beitrag zur Hämolysinbildung der Typhusbacillen.“¹⁾

Von Dr. **Julius Kentzler.**

E. und P. Levy geben in ihrer Arbeit über Typhushämolysine (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXX. p. 406—407) an, daß die von ihnen zuerst gefundenen Typhuslysine durch Wärme nicht inaktivierbar sind. Aber es ist nach meiner Ansicht nicht derart exakt angegeben, inwiefern die betreffenden Lysine thermostabil sind. Ich hätte es für exakt gehalten, wenn sie, wie ich es dargetan habe, auch den Grad und die Zeit angegeben hätten, bei welcher diese sonst thermostabilen Lysine zugrunde gehen.

Was die Antilysinbildung anbelangt, so konnte ich derartige Stoffe bei meinen Versuchstieren nie finden, und bedaure sehr, daß meine Versuche in dieser Hinsicht die Versuchsergebnisse von E. und P. Levy nicht decken können.

Nachdruck verboten.

Theorie und Technik der Reaktion von Wassermann und die diagnostische Bedeutung derselben.

[Aus dem Syphilidologischen Laboratorium von Prof. Dr. K. Zabolotny und der Klinik für Hautkrankheiten auf den Namen W. K. Sinjagin und A. R. Tschekalewa von A. N. Solowjew im Institute für Experimentalmedizin.]

Von **P. P. Maslakowetz** und **J. J. Liebermann.**

Die Methode der Serumdiagnostik, die auf die Arbeiten von Bordet und Gengou begründet ist und zuerst von Wassermann, Neisser und Bruck zur Diagnose der Syphilis angewandt wurde, ist in der Lehre für die Syphilis epochemachend.

Ihrer Bedeutung nach steht diese Methode den großen Entdeckungen, die auf dem Gebiete dieser Erkrankung in der letzten Zeit gemacht worden sind, d. h. der Möglichkeit experimenteller Syphilisinfection von Tieren und der Entdeckung des Syphiliserregers, *Spirochaete pallida*, nicht nach. Bevor wir zur Zusammenstellung des in dieser Beziehung angehäuften Materials und zur Mitteilung der Resultate unserer Untersuchungen übergehen, halten wir es für nötig, einige theoretische Daten über Hämolysine und Bakteriolyse mitzuteilen, worauf die ganze Reaktion begründet ist, wie auch die Technik der letzteren und alle Veränderungen, die in derselben von verschiedenen Autoren bei weiterer Ausarbeitung eingeführt wurden.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVI. Heft 4.

Injizieren wir einem Kaninchen Erythrocyten von irgend einem Tiere einer anderen Gattung, im gegebenen Falle von einem Hammel, so erhält schließlich nach einer Reihe solcher Injektionen das Blutserum des Kaninchens die Fähigkeit, das Hämoglobin der Erythrocyten des Hammels auszulaugen, d. i. zu hämolysieren. Dieser Prozeß kommt nicht nur im Organismus des Kaninchens, sondern auch im Probierglase zustande. Alle auf diese Weise eingeführten Stoffe, in diesem Falle die Erythrocyten, oder andere Zellelemente oder Bakterien wollen wir im weiteren „Antigene“ nennen, die Einführung dieser Antigene in den Organismus „Immunisation“.

Wenn man durch allmähliche Immunisation hämolytisch gewordenen Serum eines Kaninchens eine halbe Stunde lang auf 56—58° erwärmt, d. i. inaktiv macht, so verliert es die Fähigkeit, Erythrocyten zu hämolysieren. Wenn wir aber zu diesem inaktiv gemachten Serum solches (durch Versuche als selbständig nicht hämolysierend erwiesenes) von einem anderen Tiere hinzufügen, so erhält es die verlorene Fähigkeit wieder, Erythrocyten zu hämolysieren. Somit haben wir ein Recht, anzunehmen, daß hämolytisches Serum von Kaninchen zwei wirksame Faktoren enthält. Der eine, der bei Erhitzen auf 56—58° verschwindet und ersetzt werden kann durch Hinzufügen von Serum eines anderen Tieres, ist nicht spezifisch, weil in jedem beliebigen Serum vorkommend. Verschiedene Autoren nennen ihn verschieden; Buchner nennt ihn Alexin, Metschnikoff Cytase, Ehrlich Komplement. Die letzte Bezeichnung wollen auch wir gebrauchen.

Der zweite wirksame Faktor, der beim Erhitzen nicht verschwindet, ist streng spezifisch für den gegebenen Organismus und das gegebene Antigen. Nur in seiner Anwesenheit löst sich das gegebene Antigen.

Die Rolle dieses Stoffes kann man sich durch folgende schematische Beispiele klarlegen:

Nehmen wir Fuchsin und färben damit die Geißeln der Bakterien, so sehen wir, daß die Geißeln für Fuchsin nicht empfänglich sind, sie färben sich nicht; behandeln wir aber zuerst die Geißeln mit Aetzmitteln, so fangen sie sich zu färben an. Das Aetzmittel verkettet gleichsam das Fuchsin mit den Geißeln und bereitet sie zur Empfänglichkeit für Fuchsin vor.

Wie wir schon gesehen, hat das Komplement nicht die Eigenschaft, die Erythrocyten zu lösen, und nur die Anwesenheit des zweiten wirksamen Faktors befähigt es, dieselben zu lösen. Dieser wirksame Faktor nun, der die Rolle des Aetzmittels im oben angegebenen Falle spielt, verkettet das Komplement mit den Erythrocyten, d. i. mit dem Antigen. Ehrlich nennt diesen Stoff Ambozeptor, Metschnikoff Philocytase, Fixator, Duclaux Immunisin, Bordet substance sensibilisatrice, London Desmon. Wir wollen uns an die Nomenklatur von Ehrlich halten und ihn Ambozeptor nennen.

Alles oben Angeführte ist vollständig anwendbar bei einem beliebigen Krankheitserreger bei der Infektion des Organismus. Haben wir z. B. einen Menschen, der durch Spirochäten infiziert ist, so muß bei ihm mit der Zeit ein spezifischer Ambozeptor erscheinen, der das in seinem Organismus normal vorkommende Komplement mit der Spirochaete, d. i. mit dem Antigen, bindet. Zur Erklärung der im Blute des Menschen erscheinenden spezifischen Ambozeptoren ist von Ehrlich die sehr

geistreiche Theorie der Seitenketten aufgestellt worden, worauf wir in kurzen Zügen eingehen wollen.

Ehrlich sieht das Protoplasma der funktionierenden Zellen des Organismus als aus einer Masse von Molekülen bestehend an; jedes Molekül besteht aus einem Kern und Seitenketten oder Rezeptoren, deren Rolle in der Assimilation der im Plasma zirkulierenden Stoffe besteht, welche, wenn auch entfernte, chemische Verwandtschaft zu ihnen haben. Wenn diese assimilierten Stoffe, die in den Gefäßen des Organismus zirkulieren, für den Rezeptor als Gift erscheinen, so geht derselbe natürlich zugrunde; wenn eine Masse Rezeptoren zugrunde geht, so leidet auch das Molekül und schließlich auch die Zelle. Aber wenn es der Zelle gelingt, im Kampfe zu widerstehen, so beginnt sie nach dem Gesetz der Regeneration von Weigert die zugrunde gegangenen Rezeptoren in überreicher Zahl wiederherzustellen. Diese überflüssigen Rezeptoren lösen sich von der Zelle, schwimmen frei im Plasma und verlieren nicht die Fähigkeit, die Stoffe, welche sie zum Leben gebracht, zu assimilieren. Solche freie Rezeptoren erscheinen als Antitoxine. Doch manchmal erhält ein Rezeptor, unter Verlust der Fähigkeit, selbst zu assimilieren, die Fähigkeit, das normal im Serum des Organismus vorkommende Komplement mit dem Antigen, das ihn ins Leben gerufen, zu binden. Solche Rezeptoren erscheinen schon als Ambozeptoren. Diese Erklärung gibt für die Bildung von Antikörpern oder Ambozeptoren im Organismus die Theorie von Ehrlich.

Gehen wir zur Reaktion über, die von Wassermann, Neisser und Bruck empfohlen wird, so können wir uns sie durch die folgenden zwei Beispiele vorstellen:

1) Nehmen wir in ein Probierglas ein Antigen, z. B. Spirochäten, fügen dazu inaktiviertes Serum eines Syphiliskranken, das den spezifischen Ambozeptor enthält, gießen dazu ein Komplement, sagen wir das Serum von einem Meerschweinchen, so wird das Komplement, dank der Anwesenheit des spezifischen Ambozeptors, mit dem Antigen verbunden; wenn wir aber in dasselbe Probierglas noch durch einen hämolytischen Ambozeptor sensibilisierte Erythrocyten hinzufügen (inaktiviertes hämolytisches Serum und Erythrocyten eines Hammels), so sehen wir, daß keine Auflösung der Erythrocyten erfolgt; sie setzen sich auf dem Boden des Probierglases ab. Zu ihrer Auflösung ist kein freies Komplement da; dieses ist durch den spezifischen Ambozeptor an das Antigen gebunden.

2) Wenn wir zu einem Antigen, z. B. Spirochäten, Serum von einem gesunden Menschen hinzufügen, folglich Serum, das keinen spezifischen Ambozeptor hat, und darauf ein Komplement zugießen, so bleibt dieses Komplement frei; fügen wir nunmehr inaktiviertes hämolytisches Serum und Erythrocyten hinzu, so wird das Komplement durch die hämolytischen Ambozeptoren fixiert, es tritt Hämolyse der Erythrocyten ein und die Flüssigkeit im Probierglase wird rot; Erythrocyten setzen sich nicht ab.

Somit müssen wir zur Ausführung der Reaktion fünf Elemente haben: 1) Antigen; 2) das zu untersuchende Serum vom Menschen; 3) ein Komplement; 4) Erythrocyten eines Hammels; 5) hämolytisches Serum eines Kaninchens.

1) Da wir keine Kultur des Syphiliserregers haben, so schlug Wassermann vor, das Antigen aus den Organen gestorbener oder togeborener, notorisch syphilitischer Kinder zu gewinnen. Gewöhnlich

benutzt man zu diesem Zwecke die Leber. Diese wird in kleine Stücken geschnitten, in einen Kolben gebracht und mit einer $\frac{1}{2}$ -proz. Lösung von Acid. carbolicum in physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis von 1:4 begossen. Diese Mischung wird auf 24 Stunden in einen Schüttelapparat gebracht, darauf zentrifugiert, und zur Reaktion nimmt man davon 0,2 ccm. Das auf diese Weise erhaltene Extrakt muß durchsichtig und frei von allen Zellelementen sein. Da das nach Wassermann zubereitete Antigen schnell seine Stärke verliert, so schlug Levaditi den Gebrauch von im Exsikkator über Chlorcalcium getrockneter Leber vor. Eine solche pulverisierte Leber wird gemischt in einer physiologischen Kochsalzlösung im Verhältnis von 1:30 und in der Kälte 12 Stunden abgestellt, worauf sie zentrifugiert wird.

Unsere Erfahrung zeigt, daß dieses Verfahren viel praktischer als das Wassermannsche ist, da die getrocknete Leber sich sehr gut erhält und wir zu jeder Zeit ein frisches Antigen haben können. Wir trockneten gewöhnlich bei einer Temperatur von 40—45° und bewahrten die getrockneten Leberstücke in verlöteten Röhrchen auf. Von dem nach Levaditi zubereiteten Antigen nimmt man zur Reaktion ebenfalls 0,2 ccm.

2) Um Blut vom Menschen zu erhalten, benutzen wir folgende Methode: Nach entsprechender Vorbereitung des Operationsfeldes wird am oberen Drittel des Oberarmes der Esmarchsche Gummischlauch angelegt; gewöhnlich tritt nach $\frac{1}{2}$ —1 Minute das Gefühl der Vertaubung und Anschwellung der Venen ein. Wir nehmen mittelst einer Spritze aus der Vene in der Ellbogenbeuge ungefähr 5 g Blut. Darauf wird das Blut in breite Glasgefäße gegossen und für $\frac{1}{2}$ —1 Stunde in den Thermostat bei einer Temperatur von 37° gestellt. Nachdem das Blut geronnen, muß das Koagulum vom Gefäßrande gelöst werden, was leicht mit einer Platinnadel geschieht. In diesem Zustande wird das Blut auf 3—4 Stunden an einen kalten Ort gestellt; das Serum wird mit einer Pasteurschen Pipette abgesaugt, und wenn in ihm Erythrocyten sind, so wird es zentrifugiert, da die Anwesenheit von Erythrocyten die Reaktion verdunkelt. Das Serum muß im Lauf einer halben Stunde durch Erhitzen auf 56—58° inaktiv gemacht werden. Zur Reaktion wird 0,2 ccm Serum genommen.

3) Als Komplement gebraucht Wassermann Serum von Meerschweinchen, indem er es in einer physiologischen Kochsalzlösung in der Proportion von 1:10 verdünnt; von dieser Lösung gebraucht er zur Reaktion 1 ccm. Die Gewinnung des Serums zum Komplement bei großer Menge von Versuchen zieht fast immer den Untergang des Meerschweinchens nach sich. Die Methode der Gewinnung des Blutes aus der Schläfenarterie, wobei das Leben des Meerschweinchens erhalten bleibt, ist sehr mühsam und gibt keine genügende Menge Serum. Das Komplement muß immer frisch zubereitet sein, da es sogar, in der Kälte aufbewahrt, schnell seine Stärke einbüßt. Infolgedessen bietet die Mitteilung von Friedberger ein großes Interesse, daß Hinzufügen einer 4-proz. Natriumchloratlösung zum Serum auf lange zur Erhaltung der Energie des Komplements beiträgt. Wir selbst haben dieses noch nicht kontrolliert.

4) Um Erythrocyten zu erhalten, benutzen wir das Blut eines Hammels, welches wir aus der Vena jugularis mittelst einer Spritze erlangen; diese Operation ist leicht und schnell ausgeführt. Das auf diese Weise gewonnene Blut gießen wir aus der Spritze in einen Glas-

kolben, wohin zuvor bis 20 Porzellankugeln gelegt waren. Das Blut wir nun so lange geschüttelt, bis alles Fibrin an den Kugeln gerinnt. Das defibrinierte Blut wird zentrifugiert; darauf wird das Serum abgegossen; in das Probierrglas wird physiologische Kochsalzlösung hinzugefügt und nochmals zentrifugiert bis zur Durchsichtigkeit. Die auf diese Weise 3—4 mal durchgewaschenen Blutkörperchen werden in physiologischer Lösung im Verhältnis von 1:19 verdünnt. Auf solche Weise erhalten wir eine 5-proz. Emulsion von Erythrocyten in physiologischer Lösung. Zur Reaktion nimmt man 1 ccm dieser Emulsion.

5) Recht schwer erhält man hämolytisches Serum von hohem Titer. Zu diesem Zwecke immunisieren wir ein Kaninchen auf folgende Art: Die erste Einspritzung wird in die Randvene des Ohrs gemacht, wohin die ausgewaschenen Erythrocyten in einer Menge von 1—2 ccm eingeführt werden. Die Operation gelingt immer ohne jegliche Schwierigkeiten. Nach 4—5 Tagen führen wir defibriniertes Blut in die Bauchhöhle ein, da eine zweite Einspritzung von Blut in die Vene häufig das Kaninchen zu Grunde richtet. Subkutane Einführung von Blut haben wir infolge häufiger Hautnekrose an der Einspritzungsstelle auch verworfen. Die folgenden Einspritzungen machen wir alle 4—5 Tage, und zwar bis 10 ccm defibriniertes Blut in die Bauchhöhle. Diese Operation wird 4—6mal wiederholt, und dann wird die Titrierung des Serums vorgenommen. Zum Erhalten von Serum benutzen wir Pasteursche Pipetten, indem wir vorher an der Stelle der Verdünnung der Pipette eine Ampulle ausblasen. Um Hyperämie hervorzurufen und das Gerinnen des Blutes zu verhindern, wird in die Stelle des Einstichs Xylol eingerieben. Die Pipette wird in die Randvene in der Richtung zur Peripherie eingeführt, wobei das Blut ohne jegliche Schwierigkeit die Ampulle bis zur Hälfte anfüllt. Diese Pipette stellen wir auf eine halbe Stunde in den Thermostaten bei 37° zur besseren Gerinnung. Sobald sich ein Koagulum bildet, fangen wir die Pipette um ihre Längsachse zu drehen an; auf diese Weise löst sich das Koagulum von den Wänden der Pipette und das Serum fließt in den engeren Teil derselben; jetzt brechen wir das untere verlötete Ende der Pipette ab und lassen das ganze Serum in ein Probierrglas abfließen. Wenn in das Serum Erythrocyten gelangen, so zentrifugieren wir es und machen es schließlich durch Erhitzen auf 56—58° im Laufe einer halben Stunde inaktiv. Das Serum wird in einem verlöteten Probierrglas in der Kälte aufbewahrt. In diesem Zustande erhält es seine Energie lange.

Wer viel Kaninchen immunisiert hat, weiß, welchen Schwierigkeiten man dabei begegnet. Oft kommen Kaninchen vor, bei welchen es auf keine Weise gelingt, hämolytisches Serum hohen Titers zu erhalten, was nur durch individuelle Eigenschaften des Organismus erklärt werden kann. Oefters beginnt ein Kaninchen mit gutem hämolytischen Serum, d. i. mit hohem Titer, seine Fähigkeit zu verlieren, der Titer fällt, und ungeachtet der weiteren Immunisation gelingt es nicht, ihn zu heben. Ueberhaupt muß man alle 2 Monate die Immunisation erneuern, denn gewöhnlich erschläft mit der Zeit die Kraft des Titers. Infolge aller dieser Schwierigkeiten nehmen wir, wenn wir bei wiederholter Immunisation Serum von hohem Titer erhielten, vom Kaninchen soviel als möglich Blut, inaktivieren das Serum und trocknen es im Exsikkator über Schwefelsäure, sammeln es im Probierrglas und verlöten dasselbe. Unsere Erfahrung zeigte, daß solches Serum seine hämolytischen Fähigkeiten nicht verliert und sehr lange sich erhalten kann. Da das Serum bei

solcher Behandlung, d. i. beim Trocknen, $\frac{9}{10}$ seines ursprünglichen Gewichts verliert, so verdünnen wir es zuerst für die Arbeit, indem wir auf $\frac{1}{10}$ Gewichtseinheit $\frac{9}{10}$ destilliertes Wasser zufügen, und erhalten so normales Serum. Jetzt muß man das durch eine der geschilderten Methoden erhaltene Serum austitrieren. Zu diesem Zweck gießen wir in eine Reihe von Probiergläsern 1,0 verdünntes Serum, wobei die Verdünnung beständig vergrößert wird. So nehmen wir zuerst 1,0 normales Serum und verdünnen es mit 9,0 physiologischer Lösung. Das ist unsere 10-proz. Grundlösung. Von hier aus geht die weitere Verdünnung von 1:100, 1:200 etc. bis 1:1000. In jedes Probierglas, in welches schon 1,0 so verdünntes Serum gegossen ist, fügt man 1,0 ccm 5-proz. Emulsion von Hammelerythrocyten, 1 ccm Komplement eines Meerschweinchens in Verdünnung von 1:10 und 2 ccm physiologischer Lösung. Die Gesamtmenge muß bei allen Reaktionen in jedem Probierglase 5 ccm betragen. Das letzte Probierglas, in welchem noch bei größter Verdünnung des Serums eine vollständige Hämolyse eintritt, gibt auch den Grenzwert der Titration an.

Zur Reaktion nimmt Wassermann Serum von dem Titer, der 2mal stärker als der Grenzwert ist. Wenn der Grenztiter 1:1000 war, so muß man Serum in der Verdünnung von 1:500 in der Quantität 1 ccm nehmen.

Die Technik der Ausführung der Reaktion ist folgende:

1) Man nimmt in das Probierglas Antigen 0,2 ccm und füllt bis zu 1 ccm mit physiologischer Lösung auf.

2) Von dem zu untersuchenden Serum 0,2 ccm in 1,0 ccm physiologischer Lösung; dieses Serum muß inaktiviert sein.

3) Das Komplement eines Meerschweinchens in der Verdünnung von 1:10, d. i. auf 0,1 Komplement 0,9 physiologische Lösung; zur Reaktion nimmt man 1 ccm.

Diese 3 Elemente werden zusammengegossen und auf 1 Stunde in den Thermostaten bei 37° gestellt, danach wird hinzugefügt:

4) 1 ccm eines hämolytischen, inaktiv gemachten Serums von doppelter Stärke eines Grenztiters.

5) 1 ccm einer 5-proz. Emulsion von Hammelerythrocyten.

Jetzt wird die ganze Mischung wiederum auf 2 Stunden in den Thermostaten gestellt und dann ungefähr auf 6—8 Stunden in die Kälte; dann ist die Reaktion beendet.

Um sich von der Genauigkeit des Resultats auf Grund dieser Reaktion zu überzeugen, empfahl Wassermann, daneben noch 14 Kontrollversuche zu machen. Da wir aber schon vorher geprüftes Antigen aus getrockneter Leber benutzen und eine bestimmte Methode bezüglich der Verdünnung des Komplements ausgearbeitet haben, worüber wir im weiteren sprechen werden, so haben wir uns folgende Tabelle von Kontrollversuchen aufgestellt, an welche wir uns auch immer halten, und die wir vollständig überzeugend finden.

Wenn wir annehmen, daß wir im ersten Probierglase, das als Grundlage dient, positive Resultate erhalten, so können wir daraufhin noch nicht den richtigen Schluß auf die Anwesenheit des spezifischen Ambozeptors in dem zu untersuchenden Serum stellen, da eine solche Hemmung der Hämolyse auch ein Antigen geben kann, wenn es selbst die Fähigkeit besitzt, das Komplement zu binden, was nicht selten beobachtet wird. Um festzustellen, daß die Hemmung der Hämolyse nicht das Resultat der Bindung des Komplements mit dem Antigen ist, wird das

zweite Probierglas benutzt, wobei Antigen in doppelter Quantität genommen wird. Wenn diese Reaktion Hemmung gibt, so ist das Antigen zu stark, und man muß es entsprechend verdünnen. Die Reaktion muß immer eine vollständige Hämolyse geben, widrigenfalls das Resultat des ersten Versuches nicht gültig ist. Jetzt muß kontrolliert werden, ob nicht das zu untersuchende Serum das Komplement bindet, was im positiven Falle auch zu einem fehlerhaften Schluß führen kann. Dazu

Antigen	Das zu untersuchende Serum	Komplement	Hämolysches Serum	Erythrocyten von Hammelblut	Resultat
1) 0,2	0,2	1,0	1,0	1,0	— Hämolyse + Hemmung
2) 0,4	phys. Lös. 1,0	1,0	1,0	1,0	Hämolyse
3) phys. Lös. 1,0	0,2	1,0	1,0	1,0	"
4) 0,2	Normalserum 0,2	1,0	1,0	1,0	"
5) 0,2	Ser. v. Syphiliskr. 0,2	1,0	1,0	1,0	Hemmung
6) phys. Lös. 1,0	0,2	phys. Lös. 1,0	1,0	1,0	"
7) phys. Lös. 1,0	phys. Lös. 1,0	1,0	1,0	1,0	Hämolyse

dient der Versuch im dritten Probierglas, wo wir immer völlige Hämolyse erhalten müssen. Bei der Untersuchung einer ganzen Reihe von Seren begegnen wir recht häufig solchen, welche selbst das Komplement binden; in solchen Fällen muß man das gegebene Serum in größerer Verdünnung nehmen, d. i. anstatt 0,2 ccm 0,1 oder sogar 0,05 ccm.

Um zu einem richtigen Schluß zu kommen, müssen wir immer unser Antigen kontrollieren, ob es nicht die Eigenschaft hat, das Komplement mit dem Serum des gesunden Menschen zu binden, zu welchem Zwecke wir das vierte Probierglas nahmen, wo immer vollständige Hämolyse erhalten werden muß. Da das Antigen ein äußerst unbeständiger Stoff ist, so machten wir, um uns seiner Aktivität zu versichern, eine Kontrollreaktion, indem wir zu diesem Zwecke Serum mit einem sicheren Ambozeptor nahmen; derselbe war natürlich früher festgestellt. Das fünfte Probierglas mit solcher Reaktion muß immer Hemmung geben, widrigenfalls wir sagen können, daß unser Antigen untauglich und folglich die erste Reaktion nicht überzeugend war. Die sechste Reaktion dient zur Kontrolle der Inaktivierung des Serums; hier muß immer volle Hemmung auftreten.

Endlich die siebente Reaktion, wo immer Hämolyse erhalten werden muß; sie wird gemacht zur Kontrolle der Tauglichkeit unseres hämolysischen Systems.

Wenn nun alle diese Versuche gemacht sind, die das für uns nötige Resultat ergaben, halten wir die Ergebnisse im ersten Probierglase für richtig. Jetzt wollen wir noch die Aufmerksamkeit auf einige technische Kleinigkeiten lenken, deren Nichtbeachtung ebenfalls zu fehlerhaften Schlüssen führen kann.

Während die Probiergläser sich im Thermostaten befinden, muß man sie einigemal durchschütteln, da oft bei schwachem hämolysischen Serum die Erythrocyten, bevor sie ihr Hämoglobin abgeben, sich auf den Boden des Probierglases setzen und von dem langsamer sich setzenden Stroma bedeckt werden, weshalb in den unteren Schichten die Hämolyse nicht vor sich geht. Solche Hemmung der Hämolyse, die von rein mecha-

nischen Ursachen bedingt ist, kann fälschlich als Anzeichen für das Vorhandensein spezifischer Antikörper ausgelegt werden.

Das andere, was auch unbedingt erfüllt werden muß, ist das sorgfältige Reinwaschen der Hammelerythrocyten von Blutplasma. Die Sache liegt darin, daß bei der Immunisation des Kaninchens mit den Erythrocyten auch das Eiweiß des Plasmas eingeführt wird, was die Bildung von Präzipitinen im Serum des Kaninchens nach sich zieht.

Wenn wir zur Reaktion nicht genügend gut ausgewaschene Erythrocyten nehmen, so fällt das Eiweiß des Plasmas in Form von Flocken aus infolge der präzipitierenden Eigenschaften des hämolytischen Serums. Indem diese Flocken sich auf die noch nicht gelösten Erythrocyten setzen, sie gleichsam umhüllend, hindern sie deren Lösung, und infolgedessen erhalten wir wieder eine Hemmung der Hämolyse. Eine große Rolle spielt bei der Beurteilung des Resultats die Deutlichkeit der Reaktion. Zu diesem Zwecke mußten wir den Grad der Verdünnung des Komplements etwas verändern. Wassermann und andere Autoren arbeiten mit einem Komplement in der Verdünnung von 1:10. Nach unseren Beobachtungen erscheint das Komplement in solcher Verdünnung bei Arbeiten mit Antigenen, die nach Wassermann oder Levaditi zubereitet sind, zu konzentriert und verdeckt die Reaktion sehr oft. Wenn in dem zu untersuchenden Serum, nehmen wir an, nur eine unbedeutende Menge des spezifischen Ambozeptors sich befindet, so bindet sich ein Teil des Komplements mit dem Antigen, der andere Teil aber bleibt frei. Dieser Teil, indem er sich auf den hämolytischen Ambozeptor fixiert, gibt partielle Hämolyse. Solche Fälle geben einen weiten Spielraum zur subjektiven Auslegung der erhaltenen Resultate. Um eine solche partielle Hämolyse zu vermeiden, sind wir auf Grund vieler Versuche zu folgender Methode gekommen: Bei Aufstellung einer Serie von Reaktionen titrieren wir zuerst unser Komplement gegen diejenige Verdünnung des hämolytischen Serums, mit welcher wir zu arbeiten wünschen, und nehmen zu unseren Reaktionen einen möglichst geringen Titer. Wenn wir mit einem hämolytischen Serum von 1:1000 arbeiten, so stellen wir es mit dem Komplement in Verdünnungen von 1:15, 1:20 usw., und wenn eine vollständige Hämolyse mit dem Komplement, z. B. gerade noch bei 1:20, erhalten wird, so ist das die Grenze des Titors, und mit diesem Titer können wir arbeiten. Freilich müssen zu diesem Titer des Komplements auch unser Antigen und das zu untersuchende Serum nach oben angeführtem Schema kontrolliert werden. Größtenteils benutzen wir das Komplement in der Verdünnung von 1:15, bei besonders energischem sogar von 1:20. Bei solcher Verdünnung erhielten wir in der Mehrzahl der Fälle präzise Reaktionen, wo wenig Spielraum zur subjektiven Schätzung bleibt. Gegen Ende des vorigen Jahres erschien eine wichtige Mitteilung von Landsteiner, Müller und Pötzl mit Beschreibung einer Methode, welche die Reaktion bedeutend vereinfacht. Die genannten Autoren schlagen vor, als Antigen entweder wässerigen Aufguß normaler Organe von Tieren, z. B. eines Meerschweinchens (dieses Antigen wird auf gewöhnliche Art nach Wassermann hergestellt), oder einen Alkoholaufguß des Herzens eines Meerschweinchens zu benutzen, welcher folgendermaßen hergestellt wird: Man nimmt das Herz eines Meerschweinchens, befreit es vom Blute, entfernt die Coagula, zerreibt es im Mörser, legt es in den Kolben, wohin 50 ccm 95-proz. Alkohol gegossen wird; dieses wird nun in den Thermostaten bei 60° auf 12—24 Stunden gestellt und darauf filtriert.

Zur Reaktion nimmt man 0,2 ccm. Wenn man mit dieser Quantität eine Hemmung der Hämolyse beim Kontrollversuche (im zweiten Probierglase) erhält, so muß man 0,1 ccm nehmen. Landsteiner beweist an einer Reihe von ausgeführten Versuchen, daß dieses Antigen nur das Komplement in Anwesenheit des Ambozeptors von Serum Syphiliskranker bindet und von Serum solcher Tiere, die mit Trypanosomen behaftet sind, aber niemals das Komplement in Anwesenheit von normalem Serum bindet. Die Bedeutung dieses Faktums ist eine ungeheure. Einerseits erleichtert diese Methode bedeutend das Erhalten von Antigen, andererseits gibt uns das Eintreten der Reaktion mit Blut von Tieren, die mit Trypanosomen behaftet sind, das Recht, zu glauben, daß auch die *Spirochaete pallida* vielleicht zur Gruppe der Protozoen gehört, zu welcher auch die Trypanosomen gerechnet werden. Wir kontrollierten die Beobachtungen der genannten Autoren. Parallel mit wässerigen und spirituösen Extrakten normaler Organe haben wir die Versuche mit unserem aus der Leber eines Syphilitikers gewonnenen Antigen gemacht und kamen zu ganz analogen Resultaten: Wir erhielten identische Reaktionen. Versuche mit Blut von Tieren, die mit Trypanosomen infiziert waren, haben wir noch nicht anstellen können. Bis jetzt haben wir noch keine befriedigenden Erklärungen in betreff der Möglichkeit, Antigen aus normalen Organen zu bekommen. Bei den vorgeschlagenen wollen wir, da sie empirisch ist, uns nicht aufhalten. Wir erlauben uns nur das Faktum zu konstatieren, daß man mit solchen Antigenen gut arbeiten kann.

Aus der oben erklärten technischen Seite der Reaktion werden alle diejenigen Schwierigkeiten klar, die man bei der Vorbereitung überwinden muß; dieses betrifft zumeist das Erhalten hämolytischen Serums von hohem Titer und auch das Gewinnen des Komplements, das den Tod des Meerschweinchens nach sich zieht, da man zu diesem Zwecke ein mehr geeignetes größeres Tier nicht finden konnte. Uns ist es gelungen, durch eine Veränderung der Methode der Reaktion diesen Schwierigkeiten zu entgehen, worüber wir auch gleich sprechen werden. Unsere Beobachtungen haben gezeigt, daß sowohl Blutserum von Hauschweinen als auch Blutserum der Placenta Hämolyse von Hammelerythrocyten geben. Dieses Faktum haben wir benutzt zur Vereinfachung der Wassermannschen Reaktion und führen sie auf folgende Weise aus:

Wir nehmen Antigen, das auf eine der oben angeführten Arten zubereitet ist, in demselben Quantum wie bei der Wassermannschen Reaktion, d. i. 0,2 ccm, nehmen von dem zu untersuchenden Serum auch 0,2 ccm und fügen Serum aus dem Blute der Placenta oder von Hauschweinen hinzu (das vorher austitriert war); dabei nimmt man 4mal mehr als dessen Grenztiter beträgt. Zu dieser Mischung werden bis 4,0 ccm physiologischer Lösung hinzugefügt und darauf wird alles in den Thermostaten bei 37° auf 1 Stunde gestellt. Nach 1 Stunde wird hierzu 1,0 ccm einer 5-proz. Emulsion von Hammelerythrocyten zugefügt und wiederum auf 2 Stunden in den Thermostaten gestellt; darauf auf 6—8 Stunden in die Kälte. In dem Falle, wenn in dem zu untersuchenden Serum der spezifische Ambozeptor vorhanden ist, bindet sich das Komplement mit dem Antigen und zur Lösung der Erythrocyten wird kein freies Komplement da sein — es erfolgt voller Niederschlag der Erythrocyten. Indem wir das Resultat der von uns eingeführten Veränderung in einer Reihe von Serien parallel mit der ursprünglichen Wassermannschen

Methode kontrollierten, kamen wir zur Ueberzeugung der vollständigen Tauglichkeit unseres Verfahrens. Gegenwärtig haben wir die Versuche mit Serum des Blutes der Placenta ganz aufgegeben, da die zu erhaltenden Resultate nicht genügend deutlich sind; wir arbeiten ausschließlich mit Serum vom Blut des Hausschweines, womit eine sehr scharfe Reaktion erzielt wird. Das von uns vorgeschlagene Verfahren schließt vollständig hämolytisches Serum vom Kaninchen und das Komplement vom Meer-schweinchen aus, was in der Tat in Anbetracht der oben genannten Schwierigkeiten, sie zu erhalten, als eine bedeutende Vereinfachung der Reaktion erscheint. Wenn es sich bestätigt, daß man im Laufe langer Zeit die Energie des Komplements durch Hinzufügen von 4-proz. Natr. chloratum-Lösung erhalten kann, so wird die Sache noch mehr vereinfacht. Bei der Arbeit mit Serum vom Blut der Hausschweine bleibt natürlich das Schema der Kontrollreaktionen, die wir oben angeführt, vollständig in Kraft. Wenn wir die Literatur der uns interessierenden Frage betrachten, so müssen wir bemerken, daß alle Autoren das Spezifische der Reaktion einmütig anerkennen. Wir haben keinen einzigen Hinweis auf positive Reaktion mit normalem Menschenblut gefunden. In Bezug auf das Vorhandensein von spezifischen Antikörpern in verschiedenen Stadien der Syphilis sind die Autoren nicht so einig und ihre Folgerungen gehen bedeutend auseinander. Wassermann, Neisser und Bruck fanden bei der Untersuchung von 257 Syphilisfällen in verschiedenen Perioden der Erkrankung nur in 19 Proz. spezifische Antikörper. Bei primären Erscheinungen 8 Proz., sekundären 26,7 Proz., tertiären 21,6 Proz., in der frühen Periode ohne Erscheinungen 14,6 Proz., in der späten Periode ohne Erscheinungen 11,3 Proz. Ferner haben Wassermann und Plaut bei Untersuchungen der Cerebrospinalflüssigkeit und des Serums von Kranken mit progressiver Paralyse in 78 Proz. Antikörper gefunden. Citron findet in seiner Arbeit über die Statistik der Untersuchung von 800 Fällen bei Syphilitikern mit frischen Erscheinungen der zweiten Periode in 100 Proz. Anwesenheit von Antikörpern; bei Fällen von progressiver Paralyse in 100 Proz.; bei Fällen von Tabes in 87 Proz.; bei Kranken mit Syphilis in der Anamnese 76 Proz.; Landsteiner gibt in seiner letzten Arbeit ungefähr dieselben Ziffern; Fischer und Meyer fanden bei Untersuchungen von 100 Fällen von Syphilis in 84 Proz. Antikörper; bei harten Geschwüren 75 Proz., bei frischer Syphilis mit Erscheinungen 80,8 Proz., bei späterer mit Erscheinungen 72,8 Proz., bei tertiärer 100 Proz. Untersuchungen von Hoffmann und Blumenthal zeigten, daß von 100 Fällen in 80 Proz. Antikörper sich finden: Primäre Syphilis gibt 50 Proz., sekundäre 82 Proz., bösartige 89 Proz., tertiäre 88 Proz.

Gehen wir über zu unseren Untersuchungen, so müssen wir ungefähr 100 vollständig absondern, die in der Periode der Ausarbeitung der Technik gemacht sind und äußerst unklare Resultate ergaben. Die weiter unten angeführten 169 Fälle sind von uns mit besonderer Sorgfalt untersucht, beim geringsten Zweifel kontrollierten wir sie durch wiederholte Untersuchungen mit demselben Serum. Wir arbeiten immer parallel mit einer Reihe von Antigenen, die auf die verschiedenen oben angegebenen Arten zubereitet waren, und wendeten gleichzeitig die von uns veränderte Methode der Reaktion mit Serum vom Blut des Hausschweines an. Nur bei Identität der Resultate unserer Untersuchungen halten wir unsere Schlußfolgerungen für richtig.

Die von uns untersuchten 169 Fälle werden in 3 Kategorien eingeteilt:

- 1) Serum von notorischen Nichtsyphilitikern 46;
- 2) Serum von notorischen Syphilitikern 103;
- 3) zweifelhafte Sera (zu diagnostischen Zwecken) 20.

Zur ersten Kategorie diente Serum von Kranken mit verschiedenen Hautformen: Ekzema, Psoriasis, Tuberculosis cutis, Lichen ruber, Erythema rheumaticum u. a., auch Serum von Ochsen, Schweinen, Kälbern, Pferden und Meerschweinchen. In allen 46 Fällen erhielten wir ein negatives Resultat, was vollständig mit den Hinweisen der anderen Autoren zusammenfällt.

In der zweiten Kategorie betreffen 91 Fälle Syphilis in der kondylomatösen Periode und 12 in der gummösen Periode. In der gummösen Periode erhielten wir in 8 Fällen positive Reaktion und in 4 Fällen eine negative Reaktion. Die Fälle in der kondylomatösen Periode werden eingeteilt in solche, wo die Erscheinungen der Syphilis zur Zeit der Untersuchung scharf ausgedrückt waren (41), und in solche, wo Erscheinungen nicht vorhanden waren, die Anamnese der Kranken aber Syphilis aufwies (50). Alle 41 Fälle mit Erscheinungen, Papeln, nicht geheilte Geschwüre, Ausschläge verschiedener Form usw., gaben 100 Proz. positive Reaktion, unter ihnen wurden in 12 Fällen bewegliche Spirochaetae pallidae gefunden. In 50 Fällen, wo keine Erscheinungen der Syphilis offen dalagen, wurde eine positive Reaktion in 18 Fällen (36 Proz.) erhalten; in 32 Fällen war sie negativ. Im Laufe des ersten Jahres der Erkrankung gaben von 59 Fällen eine positive Reaktion 47, d. i. 79 Proz.

In Fällen von Erkrankungen von mehr als 1 Jahre gaben von 54 von uns untersuchten Kranken ein positives Resultat 27, d. i. 50 Proz. Eine solche Verringerung der positiven Resultate, die von der langen Dauer der Erkrankungen abhängt, wird von allen Autoren bemerkt. Einige von ihnen, wie z. B. Citron, versuchten dieses Faktum zu erklären als Resultat der energischen Behandlung und sogar der Genesung, aber unserer Meinung nach sind noch viel zu wenig systematische Untersuchungen am Krankenbette gemacht worden, um diese Fakta in Verbindung mit der Behandlung zu bringen. Auch wir haben uns bemüht, den Einfluß der Behandlung auf das Resultat der Reaktion aufzuklären, und unternahmen zu diesem Zwecke eine Reihe von Wiederholungsversuchen, konnten jedoch zu keinem bestimmten Schlusse gelangen. Solche Wiederholungsversuche haben wir bei 10 Kranken ausgeführt. Zwei Krankengeschichten halten wir für nötig hier anzuführen. 1) Bei der Kranken No. 2, 30 Jahre alt, trat vor 3 Monaten ein Ausschlag auf der Brust auf. Sie wurde am 3. Jan. 1908 in die Klinik aufgenommen. Der ganze Körper war mit einem dichten Ausschlag bedeckt in Form von Akne von Mohn- bis Linsenkorngröße, alle Drüsen vergrößert. Nach der Aussage der Kranken konnte sie vor $1\frac{1}{2}$ Jahren infiziert sein. Bei der Untersuchung wurden in großer Menge Spirochäten gefunden. Die Kranke wurde einer sorgfältigen Kur unterworfen. Alle Erscheinungen verschwanden. Wir untersuchten ihr Blut jede Woche und erhielten jedesmal eine klare positive Reaktion. 2) Die Kranke No. 8, 22 Jahre alt, trat in die Klinik am 31. Dez. 1907 ein. Ende November trat ein Geschwürchen auf der linken großen Schamlippe auf, bald darauf ein Ausschlag am Körper. Sie trat ein mit folgenden Erscheinungen: Vegetierende Papeln in Lab. maj. utriusque et circa anum, Varicella syphi-

litica auf dem Halse, der Brust und den unteren Extremitäten, Roseola syphilitica am ganzen Körper. Eine Menge von Spirochäten wurde sowohl aus den Papeln als aus dem Ausschlag erhalten. Die Behandlung begann am 7. Jan. 1908. Blut, das am 2. Jan. zur Untersuchung entnommen wurde, ergab eine positive Reaktion. Die Reaktion wurde wiederholt am 25. Jan., 4. Febr., 14. Febr. und gab jedesmal positive Resultate. Folglich, ungeachtet der sorgfältigen Behandlung, gaben die Untersuchungen die ganze Zeit hindurch positive Reaktion. Dieser Fall ist noch in anderer Beziehung interessant. Da wir bei der Kranken eine große Menge Spirochäten fanden, beschlossen wir, durch tägliche Anzapfungen eine Pappel an der großen Schamlippe künstlich zu unterhalten, und als bei der Behandlung alle Erscheinungen geschwunden, gelang es uns doch noch, aus dieser kaum mehr Pappel zu nennenden Exkoration völlig lebensfähige Spirochäten zu erhalten. Dieser Fall beweist, daß nach Verschwinden der Erscheinungen infolge der Behandlung doch noch Spirochäten im Organismus verbleiben.

Andererseits haben wir Geschichten von Kranken, die der Untersuchung unterworfen wurden, welche für den Einfluß der Behandlung auf die Reaktion zu sprechen scheinen. Führen wir mehr charakteristische an.

1) Eine Kranke, 40 Jahre alt, befindet sich unter beständiger Beobachtung des Kalinkin-Krankenhauses; infiziert wurde sie im Jahre 1885; Papeln an den Genitalien, Angina papulosa. Drei Behandlungskurse im ersten Jahre der Krankheit. Seit dieser Zeit waren keine Erscheinungen vorhanden, sie wurde auch nicht behandelt. Gegenwärtig sind auch keine Erscheinungen vorhanden; die Untersuchung gab negative Resultate. Es drängt sich der Schluß auf, daß die Kranke, dank irgend welchen günstigen Bedingungen, geheilt ist und deshalb natürlich negative Resultate gibt.

2) Eine Kranke, 32 Jahre alt, befindet sich ebenfalls unter Beobachtung des Kalinkin-Krankenhauses. Sie erkrankte im Jahre 1893; primäres Geschwür, Papeln. Behandlung im Jahre 1893; seit der Zeit keine Erscheinungen und keine Behandlung. Die Reaktion war eine negative.

Gehen wir nun zur Betrachtung der zweifelhaften Fälle über: Solche Kranke kamen zu uns aus dem Krankenhause und von den Aerzten zu diagnostischen Zwecken. Im ganzen wurden 20 Personen untersucht.

1) In zwei Fällen mußte entschieden werden, ob wir es mit einem Cancer oder Gumma der Leber zu thun hatten, die höckerige Beschaffenheit aufwies. Zur Entscheidung dieser Frage versuchten wir unser Antigen mit einer Reihe von Seren von notorischen Krebskranken in der Absicht, zu sehen, ob es nicht in Anwesenheit eines solchen Serums das Komplement binden würde. Nachdem wir uns überzeugt hatten, daß eine solche Bindung nicht eintrat, gingen wir zu den Versuchen mit dem Serum von unseren Kranken über. In beiden Fällen erhielten wir eine negative Reaktion. Bei einem von diesen Kranken, der starb, wurde bei der Sektion wirklich die Krebsdiagnose bestätigt; der andere Fall wurde operiert, wobei Leberechinococcus gefunden wurde.

2) Interessant ist ein Fall mit einer Affektion des Knies, wo eine Infektion syphilitischen Charakters angenommen wurde. Es wurde eine energische Behandlung mit Quecksilber und Jodkali vorgenommen, doch ohne sichtliches Resultat. Die Reaktion ergab negative Resultate. Eine Operation ergab die Anwesenheit einer Neubildung.

3) Ein Kranker, 24 Jahre alt, Gardist, von athletischem Körperbau. Bestreitet kategorisch Syphilis. Außer unbedeutender Vergrößerung der Drüsen keine anderen Erscheinungen, die auf überstandene Lues hinweisen konnten. Bei seinem Weibe waren vor 4 Monaten Condylomata lata. Die Reaktion gab ein positives Resultat.

4) Eine Kranke, 19 Jahre alt. Im Jahre 1906 erschien bei ihr ein Ausschlag von papulös-pustulösem Charakter, der fast den ganzen Körper einnahm; ungeachtet energischer Quecksilberbehandlung verschwindet er bis jetzt nicht. Die Reaktion ist deutlich positiv. Auf Grund einmütiger Bestätigung aller Autoren und auch unserer Beobachtungen, die das Spezifische der Reaktion bestätigen, müssen wir den Schluß ziehen, daß die Kranke unbedingt eine Luesinfektion überstanden hatte, aber dieses schließt durchaus nicht die Möglichkeit aus, daß der Ausschlag nicht syphilitischen Charakters ist, da auf der Haut von Syphilitikern auch andere Ausschläge sich entwickeln können.

5) Ein Kranker, 26 Jahre alt, Soldat. Anfang 1906 ein Geschwür auf dem Gliede, Schmerz in der Kehle. Behandlung: 60 Einreibungen und 16 Injektionen von unlöslichem Quecksilber; die letzte im März 1907. Ungefähr um dieselbe Zeit erschien ein feinknötiger, stark juckender Ausschlag am ganzen Körper. Eine neue energische Quecksilberkur gab keine Resultate. Dem Arzte, der zur Zeit den Kranken behandelte, kamen Zweifel an der Richtigkeit der anfänglichen Diagnose auf. Es wurde die Wassermannsche Reaktion gemacht, die positive Resultate gab. Folglich leidet auch in diesem Falle der Kranke nach Ueberstehen der Syphilis an einer anderen Form von Hauterkrankung.

Von allen 20 Fällen, die von uns zum Zwecke der Diagnose untersucht wurden, erhielten wir eine positive Reaktion in 3 Fällen.

Mit den angeführten Fakten wollen wir die Uebersicht unserer Untersuchungen schließen.

Wir wollen hier nicht alle die interessanten Erscheinungen aufzählen, welchen wir bei unseren Arbeiten begegneten. Viele von diesen bedürfen noch Erklärungen, welche bei dem gegenwärtigen Stande der Frage nicht gegeben werden können. Wir wollen nur bemerken, daß vorkommende Zufälligkeiten bei solchen, die mit der Reaktion von Wassermann zu arbeiten anfangen, Zweifel hervorrufen und zu fälschlichen Schlüssen führen können. Vollständig recht hat Hoffmann, wenn er sagt, daß nur die Untersuchungen Vertrauen verdienen, die geleitet wurden von Leuten, welche erfahren in der Technik der Reaktion und bekannt mit allen Fehlerquellen waren.

Wenden wir uns wiederum zum Literaturmaterial, so sehen wir, daß in der gegenwärtigen Zeit fast alle Arbeiten auf die Entdeckung spezifischer Antikörper gerichtet sind, die Frage über das Auffinden des Antigens wird wenig ausgearbeitet.

Wir sind überzeugt, daß der Nachweis von Antigen eine große Rolle spielen wird sowohl in der Diagnostik als auch in der richtigen Therapie der Syphilis, da zurzeit noch nicht das Wesen der Wirkung des Quecksilbers auf den Krankheitserreger uns bekannt ist. Bisher haben wir in der uns zugänglichen Literatur eine Bearbeitung dieser Frage nur von Neisser gefunden. Die Reaktion zur Aufdeckung des Antigens in den zu untersuchenden Produkten wird nach dem Prinzip der Reaktion von Wassermann ausgeführt: Man nimmt das zu untersuchende Material, darauf Serum eines Syphilitikers, in welchem vordem der spezifische Ambozeptor gefunden war, und das Komplement, stellt alles dieses in

den Thermostaten auf 1 Stunde und fügt dann Erythrocyten und hämolytisches Serum hinzu. Wenn im zu untersuchenden Material Antigen vorhanden ist, so bindet es bei Anwesenheit des Ambozeptors das Komplement und die Hämolyse tritt nicht ein. Wenn kein Antigen vorhanden ist, gibt das Komplement, indem es sich an den hämolytischen Ambozeptor fixiert, Hämolyse. Indem Neisser Extrakte von Organen syphiliskrankter Affen untersuchte, kam er zu dem Schluß, daß Antigen regulär dort vorgefunden wird, wo wirklich syphilitisches Material der Untersuchung unterzogen wurde, negatives Resultat gaben immer normale Organe. Beim Menschen ist diese Methode der Untersuchung freilich nicht tauglich. Bei der Untersuchung verschiedener Produkte der Ausscheidungen des Menschen, auch Blut und Cerebrospinalflüssigkeit, kommt Neisser zu dem Schluß, daß Antigen nur in den Extrakten von Blut gefunden werden kann. Zu diesem Zwecke schlägt er vor, 1—2 ccm Blut mit einem gleichen Quantum physiologischer Lösung unter Hinzufügung von $\frac{1}{2}$ -proz. Karbollösung zu verdünnen. Leider spricht er nicht von der weiteren Manipulation mit diesem Extrakt, und genügend eigene Erfahrung haben wir noch nicht. Bei Untersuchung von 262 Fällen von syphiliskranken Menschen in verschiedenen Stadien der Entwicklung fand er in 75,5 Proz. die Anwesenheit von Antikörper oder Antigen, wobei er in der Mehrzahl der Fälle nur die Anwesenheit von Antigen fand. Gegenwärtig ist die Methode des Auffindens von Antigen noch lange nicht ausgearbeitet und diese wichtige Frage harret ihrer Entscheidung. Betrachten wir die Statistik aller oben genannten Autoren, so müssen wir, ungeachtet der Unzulänglichkeit der Fälle für eine Schlußfolgerung in prozentualer Beziehung, die ungeheure Rolle anerkennen, welche die Reaktion von Wassermann in der Diagnostik spielen muß. In allen Fällen, wo man eine positive Reaktion erhält, freilich bei Ausschluß aller möglichen Fehler, kann man kategorisch behaupten, daß wir es mit einem syphilitischen Subjekt zu tun haben. Mit diesen Schlüsse sind alle Autoren einig.

Eine ungeheure Bedeutung messen wir der Methode der Serumdiagnostik bei Erkrankung der inneren Organe, des Gefäß-, Nerven- und Knochensystems bei und auch bei Erkrankungen des Schapparates, wo bei Fehlen von Fakten in der Anamnese und sichtlicher Erscheinungen von Syphilis oft nur diese Methode die Möglichkeit einer sicheren Diagnose gibt. Eine nicht geringe Bedeutung kann diese Methode in den Fällen haben, wo es sich um eine Schwangere handelt, deren Mann syphiliskrank war, sie selbst aber keinerlei Erscheinungen von Syphilis hatte. Eine positive Reaktion zwingt uns in solchen Fällen, eine spezifische Behandlung zu bestimmen, um einen Abort zu verhüten, aber vielleicht auch eine Affektion des Kindes. Diese Methode muß auch unbedingt eine große Rolle spielen in den Fällen von Verdacht der Möglichkeit der Uebertragung von Syphilis auf das Kind. Eine periodische Untersuchung verdächtiger Kinder gibt die Möglichkeit, durch frühzeitige Behandlung den späteren Erscheinungen vorzubeugen, welche häufig fast unerwartet zu schweren Affektionen der Augen und des Nervensystems führen.

Citron wies auf dem XIV. internationalen hygienischen Kongreß auf die Rolle der Serumdiagnostik bei der Auswahl von Ammen und Wärterinnen hin. Bei positiver Reaktion, wenn auch keine Erscheinungen von Syphilis vorhanden waren, kann die Amme zum Nähren des Kindes nicht zugelassen werden.

Durch diese wenigen Beispiele wird die Rolle der Reaktion sogar bei ihrer gegenwärtigen noch nicht vollständigen Ausarbeitung relief gezeichnet.

Indem wir die vorliegende Mitteilung beenden, erlauben wir uns folgende Schlußfolgerungen zu machen:

1) Die Reaktion der Serumdiagnostik in Fällen von positivem Resultat ist immer spezifisch.

2) Der Befund von Antikörpern bei dem gegenwärtigen Stande unseres Wissens von dem Wesen derselben kann nur dafür sprechen, daß der Kranke syphilitisch affiziert war, gibt uns aber nicht die Auskunft, ob der Organismus gegenwärtig krank ist.

3) Der Befund von Antigen im Blutextrakt spricht mit größter Wahrscheinlichkeit dafür, daß der Syphiliserreger sich gegenwärtig im Organismus befindet.

4) Ueber die Rolle des Quecksilbers in bezug auf den Syphiliserreger wie auch die Antikörper können wir uns bei der gegenwärtigen Entwicklung der Methoden der Reaktion nicht mit Bestimmtheit aussprechen.

5) Die Reaktion von Wassermann befindet sich erst in der Periode der Ausarbeitung, aber schon nach den Fakten, welche jetzt bemerkt werden, kann man fast mit Sicherheit sprechen von ihrer zukünftigen ungeheuren Rolle für die Diagnose, Prognose sowie auch für die Ausarbeitung einer richtigen, wissenschaftlich begründeten Methode der Behandlung.

Zum Schluß erlauben wir uns, unsere Dankbarkeit auszudrücken S. J. Kullneff, A. N. Solowjeff, A. A. Domernikowa, T. O. Baar für die freundliche Ueberweisung des Materials.

Literatur.

Wassermann, Neisser u. Bruck, Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 19. — Wassermann, Neisser, Bruck u. Schucht, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LV. 1906. — Müller, Landsteiner u. Pötzl, Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 17. — Landsteiner, Müller u. Pötzl, Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 50. — Finger, E., Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 1. — Плешневъ и Циррозъ, Медицинское Обозрение. 1908. No. 2. — Hoffmann u. Blumenthal, Derm. Zeitschr. Bd. XV. Heft 1. — Fischer u. Meyer, Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 52. — Wassermann u. Plaut, Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 14.

Nachdruck verboten.

Ueber die klinisch-bakteriologische Bedeutung der quantitativen Bestimmung der Typhusbakteriämie.

[Aus dem städtischen Obuchow-Krankenhaus für Männer in St. Petersburg (Chefarzt: Dr. A. A. Netschajew).]

Von Dr. V. R. Stühlern.

Mit 1 Kurve.

Aus den Untersuchungen von Schüffner (1) ist zu ersehen, daß beim Typhus ein gewisser Parallelismus konstatiert werden kann zwischen der Schwere der Erkrankung und dem Grade der Bakteriämie, die von Schüffner mittels Blutaussaaten auf Gallenagar bestimmt wurde. In 3 Fällen, die als foudroyanter Typhus imponierten und früh tödlich

endeten, „deckte“, sagt Schüffner, „der Gallenagar eine riesige Ueberschwemmung des Blutes mit Typhusbacillen auf, bis zu 872 Keimen in dem ersten, 238 im zweiten und 458 in dem dritten Falle aus 1,5 ccm Blut!“ In Fällen dagegen, die gutartig verliefen oder in denen der Tod infolge von Komplikationen eintrat, ergaben die Blutaussaaten im Verlaufe der 1. und 2. Krankheitswoche nur 4—120 Typhuskolonieen.

Diese Beobachtungen Schüffners veranlaßten mich, die quantitative Untersuchung der Typhusbakteriämie in einer Reihe von Typhusfällen systematisch vorzunehmen, um die Bedeutung dieser Untersuchungsart für die Klinik näher kennen zu lernen.

Die Methodik war folgende: Nach entsprechender Hautreinigung wurde durch Punktion der Vena mediana basilica oder cephalica mittels steriler Spritze 2,0 ccm Blut gewonnen und sogleich in Röhrchen mit 5,0 steriler Rindergalle vermischt; sodann wurde dieses Galleblut mit 7,0 ccm Nähragar (3 Proz. Agar, 1 Proz. Pepton, 0,5 Proz. Extractum Liebig, 0,5 Proz. NaCl; Reaktion schwach alkalisch) in Petri-Schalen gegossen und im Laufe von 24 Stunden im Brütoven bei 37° gehalten. Nach 24 Stunden erfolgte dann die Keimzählung (makroskopisch), wonach einige Kolonien zur näheren Bestimmung ihrer Art weiter abgeimpft wurden.

Ich will hier eine Eigenart der Typhuskolonien auf Gallenagar erwähnen. Schüffner, der zu Blutaussaaten Gallenzuckeragar benutzte, teilt mit, „daß auf Gallenagar die Typhusbacillen aus dem Blute in zwei Formen wachsen, von denen die eine der bekannten Form entspricht, die andere, neue, durch ein außerordentlich rasches Wachstum und eine besonders lebhafte Beweglichkeit ihrer Bacillen gekennzeichnet ist“. Diese letztere Form, die „ausgelaufenen Typhusbacillenkolonien“ (nach Schüffner) konnte ich nur in Blutaussaaten auf Gallenzuckeragar beobachten, dagegen habe ich sie nie in Blutaussaaten auf Gallenagar, der ohne Zusatz von Traubenzucker präpariert war, konstatieren können.

Im ganzen habe ich 42 Typhusfälle untersucht; in 33 Fällen konnte der Nachweis der Typhuserreger im Blute geführt und eine Keimzählung vorgenommen werden; in den restierenden 9 Fällen, die einen relativ leichten Krankheitsverlauf hatten, war der Bacillenbefund des Blutes negativ; die Blutuntersuchung konnte hier erst im Laufe der 2. Woche vorgenommen werden, d. h. zu einer Zeit, wo in Fällen von leichterem Typhus die Bakteriämie gewöhnlich nicht mehr nachzuweisen ist, worauf ich schon in einer früheren Arbeit (2) hingewiesen habe.

Die 33 Fälle mit Typhusbakteriämie — die übrigen 9 ohne nachgewiesene Bakteriämie lasse ich ganz beiseite — habe ich in 3 Tabellen gruppiert.

Tabelle I enthält: 1) Gruppe A: 3 Fälle foudroyanten Typhus (nach Curschmann) (3) (No. 1—3); 2) Gruppe B: 1 Fall Typhus abortivus (nach Curschmann) (3) (No. 4 und Kurve); 3) Gruppe C: 9 Fälle schweren Typhus (No. 5—12).

Tabelle II enthält: 1) Gruppe D: 9 Fälle mittelschweren (normalen) Typhus (No. 13—21); 2) Gruppe E: 8 Fälle leichten Typhus (No. 22—29).

Tabelle III enthält: 4 Fälle von Typhus mit tödlichem Ausgang infolge von Komplikationen (No. 30—33).

Die allgemeine Charakteristik der obengenannten Gruppen ist kurz folgende:

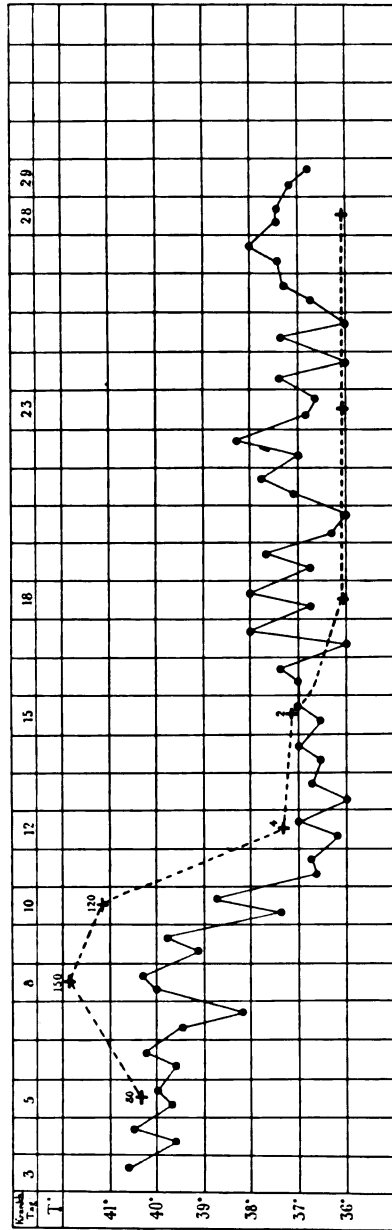
In den 3 Fällen von foudroyantem Typhus (Tabelle I, No. 1 bis 3) setzte die Krankheit akut ein, der Verlauf war ein sehr schwerer mit schwerem Status typhosus und unter den Erscheinungen von progressiver und schnell zunehmender Herzschwäche trat der Tod am 7.—11. Krankheitstage ein. Die Blutaussaaten zeigten hier einen relativ hohen Grad der Bakteriämie, und zwar 175 Kolonien im ersten, 104 im zweiten und 50 im dritten Falle aus 2 ccm Blut. Im letzten Falle war am Untersuchungstage (5. Krankheitstag) der Allgemeinzustand noch kein sehr schwerer und erst vom 6. Tage an verschlimmerte er sich zusehends. Die Sektion ergab in allen 3 Fällen einen Ileocolityphus im Stadium der markigen Schwellung. Auf Grund des klinischen, bakteriologischen und anatomischen Befundes ist mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß beim sogenannten foudroyanten Typhus die Bakteriämie das Krankheitsbild beherrscht und als Sepsis sich kennzeichnet.

Von Interesse ist folgender Fall von Typhus abortivus (Tabelle I, No. 4 und Kurve). Es handelte sich hier um einen schweren Typhus, der akut einsetzte und sehr schwer verlief mit hochgradigem Status typhosus bei schwacher Herz-
tätigkeit.

Die Temperaturkurve fiel innerhalb 36 Stunden am 11. Krankheitstage zur Norm ab und zeigte nachher wieder subfebrile Erhöhungen.

Die Blutaussaaten dieses Falles zeigten 80 Kolonien am 5. Krankheitstage, 150 am 8., 120 am 10., 4 am 12., 2. am 15. und 0 am 18., 23. und 28. Parallel mit dem Temperaturabfall konnte man hier vom 10.—12. Tage auch ein Abfallen der Bakteriämiekurve beobachten. In diesem Falle konnte ich im Gegensatz zu meinen übrigen Fällen einen

Schwerer Typhus abortivus.



Erklärung der Zeichen:

—●— Kurve der Temperatur; +----+ Kurve der Bakteriämie; + 80, 150 etc. Zahl der Typhuskolonien aus 2,0 ccm Blut; + entsprechend 36° negativer Bacillenbefund des Blutes.

Tabelle I. Foudroyanter, abortiver und schwerer Typhus.

Gruppe	Numer	Beruf und Alter	Krankheits-tag	Temperatur (abends)	Zahl der Typhus-kolonien aus 2,0 ccm Blut	Ausgang der Krankheit	Bemerkungen
A (Foudroyanter Typhus)	1	Händler, 16 J.	9.	39,2	175	Tod am 11. Krankheitsstage	Ileo-colotyphus. Markige Infiltration des Follikulärapparates des Dünn- und Dickdarms
	2	Diener, 15 J.	6.	39,8	104	Tod am 7. Tage	idem
	3	Arbeiter, 20 J.	8.	40,0	50	Tod am 8. Tage	idem
B (Typhus abortivus)	4	Arbeiter, 15 J.	5.	40,0	80	Heilung	Schwerer Typhus abortivus (siehe Kurve)
			8.	40,3	150		
			10.	38,8	120		
			12.	37,0	4		
			15.	37,0	2		
			18.	38,0	0		
			23.	36,8	0		
			28.	37,5	0		
C (Schwerer Typhus)	5	Arbeiter, 19 J.	8.	40,5	32	Heilung	Schwerer Typhus mit Pneumonia catarrhalis duplex
			12.	39,7	20		
			16.	39,5	20		
			20.	39,9	0		
			24.	39,3	0		
			31.	36,0	0		
	6	Wächter, 28 J.	10.	40,0	40	Heilung	Schwerer Typhus mit Pneum. catarrh. acuta lobi dextri sup. Furunculosis; vom 21.—46. Tage in Blutaussaaten zahlreiche Kolonien von Staphylococcus albus
			15.	38,5	25		
			21.	39,0	20		
			24.	39,2	0		
			28.	38,7	0		
			33.	38,5	0		
			39.	36,0	0		
			46.	36,8	0		
	7	Maler, 15 J.	15.	38,8	40	Heilung	Schwerer Typhus mit Pneum. catarrh. lobi dextri inf.
			18.	40,1	10		
			23.	40,0	10		
			27.	39,0	0		
			36.	37,0	0		
	8	Händler, 17 J.	10.	39,7	36	Heilung	Schwerer Typhus mit Rezidiv in der 5. Krankheitswoche; im Rezidiv konnte Typhusbakteriämie nicht nachgewiesen werden
			14.	40,0	0		
			16.	40,1	0		
			25.	38,0	0		
			4.	40,0	0		
			7.	39,2	0		
	9	Arbeiter, 34 J.	11.	37,0	0	Heilung	Schwerer Typhus mit Pneum. catarrh. duplex. Vom 29. bis 34. Tage aus dem Blute zahlreiche Kolonien von Staphylococcus albus
			18.	39,7	12		
			22.	39,6	10		
			24.	39,4	0		
			29.	39,5	0		
			34.	37,8	0		
	10	Arbeiter, 19 J.	39.	36,9	0	Heilung	Schwerer Typhus mit Pneumonia catarrhalis
			8.	39,5	28		
			12.	39,8	15		
			16.	39,2	12		
			18.	40,0	6		
	11	Fuhrmann, 19 J.	21.	39,5	0	Heilung	Schwerer Typhus mit Enterorrhagia intest. am 20. Tage
			9.	40,5	22		
			13.	40,3	16		
	12	Fuhrmann, 18 J.	18.	39,0	0	Heilung	Schwerer Typhus mit Pneum. catarrh. Vom 21.—32. Tage in Blutaussaaten einzelne Kolonien von Staphylococcus albus
			12.	40,0	60		
			19.	39,0	0		
			21.	38,7	0		
			32.	37,0	0		

Tabelle II. Mittelschwerer (normaler) und leichter Typhus.

Gruppe	Nummer	Beruf und Alter	Krankheitstag	Temperatur		Zahl der Typhuskolonien aus 2,0 ccm Blut	Ausgang der Krankheit	Bemerkungen
				morgens	abends			
D (Mittelschwerer Typhus)	13	Arbeiter, 18 J.	10.	39,5	39,1	45	Heilung	Mittelschwerer Typhus ohne Komplikationen
			14.	38,8	39,2	5		
			19.	38,2	38,0	0		
			22.	36,8	38,0	0		
	14	Händler, 27 J.	9.	38,5	39,7	56	Heilung	idem
			14.	38,4	38,5	6		
			19.	37,3	38,3	0		
	15	Arbeiter, 19 J.	8.	39,6	40,2	30	Heilung	Mittelschwerer Typhus mit Pneum. catarrh.
			10.	39,2	40,0	14		
			15.	38,8	39,2	10		
			18.	38,2	39,0	0		
	16	Hausknecht, 20 J.	10.	39,3	39,5	40	Heilung	Mittelschwerer Typhus mit Pneum. catarrh. und Parotitis purul. dextra. Vom 17.—21. Tage in Blutaussaat Kolonien v. Staphylococcus albus
			13.	39,5	39,8	22		
			17.	38,9	40,3	0		
			21.	39,0	39,4	0		
	17	Arbeiter, 19 J.	8.	38,4	39,0	30	Heilung	Mittelschwerer Typhus ohne Komplikationen
			13.	37,5	38,7	6		
			17.	36,0	38,6	0		
	18	Schneider, 16 J.	7.	39,5	39,2	40	Heilung	idem
			14.	38,6	38,8	0		
			20.	36,5	39,0	0		
	19	Schuster, 16 J.	9.	38,4	39,3	24	Heilung	idem
			14.	36,2	39,5	0		
			17.	38,0	39,0	0		
	20	Arbeiter, 16 J.	9.	39,5	40,3	42	Heilung	Mittelschwerer Typhus mit Pneum. catarrh.
			14.	38,0	39,2	0		
			17.	38,1	39,1	0		
	21	Arbeiter, 27 J.	12.	39,2	39,5	26	Heilung	idem
			16.	39,6	40,0	0		
			19.	39,0	39,1	0		
E (Leichter Typhus)	22	Fuhrmann 19 J.	11.	39,0	39,7	15	Heilung	Leichter Typhus mit leichtem Rezidiv; Typhusbakteriämie mit Bakteriämie rezidiv
			16.	37,5	38,3	0		
			20.	37,0	37,7	0		
			5.	37,2	38,8	10		
			7.	36,8	39,2	15		
	23	Rezidiv	10.	36,0	36,1	0	Heilung	Leichter unkomplizierter Typhus
			12.	38,1	38,9	10		
			16.	36,5	38,1	0		
	24		6.	39,0	39,7	16	Heilung	idem
			12.	37,5	37,2	0		
	25		7.	38,0	38,5	12	Heilung	idem
			12.	38,1	36,8	0		
	26		6.	38,6	39,0	22	Heilung	idem
			11.	36,9	38,0	0		
	27		8.	39,1	40,2	12	Heilung	idem
			12.	37,8	38,6	0		
	28		9.	39,2	40,0	4	Heilung	idem
			14.	36,0	36,5	0		
	29		9.	38,4	38,7	12	Heilung	idem
			12.	38,8	38,6	0		
			16.	37,7	39,0	0		
			20.	36,5	38,6	0		

Tabelle III.
Typhusfälle mit tödlichem Ausgange infolge von Komplikationen.

Nummer	Beruf und Alter	Krankheitstag	Temperatur		Zahl der Typhuskolonien aus 2,0 ccm Blut	Ausgang	Bemerkungen
			morgens	abends			
30	Portier, 32 J.	12.	38,3	38,7	0	Tod am 26. Tage an Peritonitis perforativa	Typhus mit Nachschub; am 24 Tage Perforationsperitonitis; Operation nach 6 Stunden; Tod am 26. Tage. Sektion: Typhus abd.; Ulcera typhosa intestini ileicum 1 perforatione; peritonitis diffusa. Am 12. Tage der 1. Temperaturwelle keine Typhusbakteriämie. Am 19. und 22. Tage im Verlaufe des Nachschubs Typhusbakteriämie. Am 25. Tage (24 Stunden nach Beginn der Darmperforation) Bacillenbefund des Blutes negativ.
		19.	39,0	39,8	28		
		22.	38,5	39,5	48		
		25.	37,8	38,6	0		
31	Arbeiter, 21 J.	9.	38,4	38,3	200	Tod am 13. Tage an Septikämie (Mischinfektion mit Staph. pyog. aur.	Sehr schwerer Typhus, kompliziert mit Parotitis purulenta sin. Am 9. Tage hohe Typhusbakteriämie. Exitus am 13. Tage unter septischen Erscheinungen. Sektion: Typhus abd.; Tumor glandularum solitarium et Peyer's intest. ilei. Pneumonia haemorrh. catarrh. pulm. utriusque; Abscessus haemorrh. renum; Parotitis pur. sin.
32	Arbeiter, 19 J.	10.	39,3	39,8	50	Tod am 34. Tage an Pneum. fibrinosa dextra	Schwerer Typhus, kompliziert durch Pneum. fibrin. dextra. Post mortem aus dem Herzblute und der hepatisierten Lunge Diplococcus lanceol.
		14.	39,0	39,5	35		
		19.	37,3	38,3	0		
		23.	38,3	38,5	0		
33	Händler	25.	37,3	39,1	0	Tod am 23. Tage an Pneum. cat. duplex	Mittelschwerer Typhus kompliziert durch Pneum. catarrh. duplex et Enteritis acuta.
		8.	40,0	40,0	40		
		16.	39,4	39,2	0		

positiven Bacillenbefund im Blute bei normaler Temperatur erheben. Conradi (4), Gildemeister (5) teilen mit, daß sie bei entfieberten Rekonvaleszenten im Blute Typhusbacillen nachweisen konnten. Conradi (6) ist es einmal sogar gelungen, schon während der Inkubationszeit, und zwar 4 Tage vor der Erkrankung, aus dem Blute die Typhuserreger zu züchten.

In Fällen von schwerem Typhus (Tab. I, No. 5 bis 12) ergab die Keimzählung am Ende der 1. und zu Anfang der 2. Krankheitswoche 20—60 Typhuskolonien aus 2 ccm Blut. Fast in allen Fällen gestaltete sich die Kurve der Bakteriämie als eine allmählich abfallende, wobei der Typhusbacillenbefund des Blutes gewöhnlich im Laufe der 3. Woche ein negativer wurde.

In Fällen von mittelschwerem (normalem) Typhus (Tab. II, No. 13—21) konnte im Grade der Bakteriämie kein wesentlicher Unterschied im Vergleich zu den schweren Fällen festgestellt werden; gewöhnlich konnte hier die Bakteriämie schon am Ende der zweiten Woche nicht mehr bestimmt werden.

Die Fälle von leichtem Typhus (Tab. II, No. 21—29) ergaben eine quantitativ schwache und eine kurz andauernde Bakteriämie; die

Bluttaussaaten zeigten bis 15 Kolonien aus 2 ccm, und im Anfang der 2. Krankheitswoche war der Bacillenbefund des Blutes gewöhnlich schon negativ.

Tabelle III umfaßt vier Fälle, in denen der Tod infolge von Komplikationen eintrat. Besonders zu erwähnen sind hier zwei Fälle. In einem Falle (No. 30) handelte es sich um Typhus mit Nachschub; während der ersten Temperaturwelle war am 12. Tage der Bacillenbefund des Blutes negativ. Am 19. und 22. Tage im Verlauf des Nachschubes konnte dagegen Typhusbakteriämie nachgewiesen werden. Der Tod trat bei negativem Bacillenbefunde des Blutes am 26. Tage an Perforationsperitonitis ein.

Im zweiten Falle (No. 31) handelte es sich um Mischinfektion, wobei zur Typhusbakteriämie sich sekundär eine Staphyloomykosis (*Staphylococcus pyog. aureus*) gesellte.

Die Frage der Mischinfektion beim Typhus gelegentlich streifend, will ich kurz bemerken, daß in meinen Fällen relativ nicht selten eine sekundäre Staphyloomykosis beobachtet werden konnte (s. Tab. I u. II).

Im Gegensatz zu dem eben angeführten Falle (No. 31) war die Blutinfektion (resp. Invasion) durch *Staphylococcus albus* bedingt, trat gewöhnlich zu Ende des Typhus auf, und zwar zu einer Zeit, wo Typhusbakteriämie nicht mehr nachgewiesen werden konnte, und zeichnete sich durch relativ gutartigen Verlauf aus. In einem Falle (No. 6) verlief die Staphyloomykosis zugleich mit einer Furunkulosis, welche letztere hartnäckig anhielt. Pneumo- und Streptokokken, die gleichfalls im Blute Typhuskranker zirkulieren können, konnte ich in meinen Fällen nicht nachweisen, was darauf zurückzuführen ist, daß diese Mikroorganismen auf gallehaltigem Nährboden nicht gedeihen.

Auf Grund der oben angeführten Beobachtungen erlaube ich mir, folgende Schlußfolgerungen zu machen:

1) Hoher Grad der Typhusbakteriämie bei gleichzeitigem sehr schweren Krankheitsverlaufe im Typhusanfang läßt auf foudroyanten Typhus schließen.

2) Diese Typhusform zeigt klinisch, bakteriologisch und anatomisch das Bild einer Sepsis.

3) Typhus abortivus kann in manchen Fällen wahrscheinlich als Uebergangsform vom foudroyanten zum schweren Typhus angesehen werden.

4) Schwerer Typhus und mittelschwerer (normaler) Typhus scheinen im Grade der Bakteriämie sich voneinander nicht wesentlich zu unterscheiden.

5) Typhus levis zeigt gewöhnlich einen schwachen Grad und eine kurze Dauer der Bakteriämie.

Literatur.

- 1) Schöffner, Münch. med. Wochenschrift. 1907. No. 35.
- 2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. Heft 2.
- 3) Curschmann, Der Unterleibstyphus. Wien 1898. p. 270 u. 275.
- 4) Conradi, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 2.
- 5) Gildemeister, Hyg. Rundsch. 1907.
- 6) Conradi, Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 41.

Berichtigung.

Auf p. 27 Zeile 4 von unten muß es heißen „Mehlnährschaden“ statt „Milchnährschaden“.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Arnsdorff, Alfred, *Monostomum vicarium* n. sp., p. 362.

Battaglia, Mario, Einige Untersuchungen über das Nagana-Trypanosoma, p. 350.

Busse, W., Ueber die Beeinflussung des hämolytischen Komplements durch Injektion Leukocytose erregender Mittel (Hetol und Hefenukleinsäure), p. 366.

Fraenkel, C., Impfversuche mit spirillenhaltigem Blut, p. 349.

Glaessner, K., Ueber Balantidienenteritis, p. 351.

Kentzler, Julius, Berichtigung zu E. Levy: Bemerkung zu der Arbeit von J. Kentzler „Beitrag zur Hämolysinbildung der Typhusbacillen“, p. 379.

Kraus, R. und Gross, S., Ueber experimentelle Hauttuberkulose bei Affen, p. 298.

Levy, E., Blumenthal, Franz u. Marxer,

A., Experimentelle Untersuchungen über Tuberkulose, p. 289.

v. Liebermann, L., Hämagglutination und Hämolyse, p. 372.

Maslakowetz, P. P. u. Liebermann, J. J., Theorie und Technik der Reaktion von Wassermann und die diagnostische Bedeutung derselben, p. 379.

Schirop, Harry, Beitrag zur Biologie des *Bacillus vitulisepticus* und zur Immunisierung gegen die durch denselben hervorgerufene septische Pneumonie der Kälber, p. 307.

Schmidt, Otto, Experimentelle Erzeugung maligner Tumoren bei Tieren durch Infektion, p. 342.

Stühlern, V. R., Ueber die klinisch-bakteriologische Bedeutung der quantitativen Bestimmung der Typhusbakteriämie, p. 393.

Nachdruck verboten.

Das Verhalten der Tuberkelbacillen in „indifferenten“ Flüssigkeiten.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Universitäts-Institute in Wien (Vorstand: Prof. Weichselbaum) und aus der II. medizinischen Klinik (Vorstand: Hofrat v. Neusser).]

Von

Privatdozent Dr. **Julius Bartel** und Dr. **Wilhelm Neumann**,
Assistenten des Institutes. Aspiranten der II. med. Klinik.

Als wir uns gelegentlich unserer Untersuchungen über die Einwirkung von Leukocyten und Lymphocyten auf Tuberkelbacillen (1, 2) zum Vergleich nach geeigneten Aufschwemmungsflüssigkeiten umsahen, in denen diese Bacillen auch nach längerem Kontakt keine wesentliche Aenderung ihrer Virulenz erleiden, machte sich uns der Mangel systematischer Untersuchungen hierüber empfindlich fühlbar. Nur gelegentlich stießen wir in der ausgedehnten Tuberkuloseliteratur auf verstreute diesbezügliche Angaben.

So verwendete Balladoro-Pallieri (3) bei seinen Studien über den Einfluß des Muskelplasmas gesunder und nach Maragliano immunisierter Tiere auf den Kochschen Bacillus 0,75-proz. Kochsalzlösung als Kontrollprobe und konnte nach 7-tägigem Aufheben derselben im Brutschrank keine Virulenzbeeinflussung der Tuberkelbacillen darin nachweisen. Andere Zeitpunkte der Verimpfung wurden freilich nicht in Anwendung gebracht. v. Lingelsheim (4) dagegen äußert gerade dem Tuberkelbacillus gegenüber selbst gegen einen Salzgehalt von 0,5 Proz. Bedenken, da die pathogenen Bakterien im Körper gewiß unter niedrigerem osmotischen Druck ständen, und daher Bakterien, wie die fett- und wachsreichen Tuberkelbacillen, die ihren Turgor nicht schnell ändern könnten, geschädigt würden. Doch stellte er diesbezüglich keine Versuche an. In gewisser Hinsicht gehören auch Untersuchungen von Martin (5) hierher. Denn er konnte bei seinen auf mineralischen Nährböden gezüchteten Tuberkelbacillen konstatieren, daß sie trotz sehr üppigen, wenn auch verzögerten Wachstums zum größten Teil ihre pathogenen Eigenschaften verloren hatten. Freilich haben seine mineralischen Nährböden eine sehr komplexe Zusammensetzung, wobei außer 0,7 Proz. Kochsalz von Salzen noch 1,5 Proz. Natriumsulfat, 0,5 Proz. weinsaures Ammon und 0,5 Proz. phosphorsaures Kalium Verwendung finden. Daher kann man auch den Verlust der pathogenen Eigenschaften nicht ohne weiteres dem Kochsalzgehalt zuschreiben.

Noch dürftiger sind die Angaben über das Verhalten der Virulenz von Tuberkelbacillen in Bouillon. Nur Hammerschlag (6) erwähnt, daß 8 Monate in Glycerinbouillon bei 39° C gehaltene Tuberkelbacillen sich im Tierversuch vollständig unwirksam zeigten, während es noch gelang, Tochterkulturen anzulegen, deren Virulenzprüfung leider unterblieb.

Etwas besser steht es mit unseren Kenntnissen über den Einfluß des Wassers auf die uns beschäftigenden Mikroben. Die ersten diesbezüglichen Versuche rühren von Chantemesse und Vidal (7) her, die Tuberkelbacillen in sterilisiertem und natürlichem Seinenwasser bei

8—12° und 15—20° aufhoben und dabei noch nach 50 bzw. 62 Tagen durch Kultur die Lebensfähigkeit der Bacillen erweisen konnten. Nur einmal nahmen sie dabei auch eine Virulenzprüfung der Tuberkelbacillen vor und konnten dadurch feststellen, daß 15 Tage lang derart aufgeschwemmte Bacillen ihre Virulenz verloren hatten, indem das Impfstoff bei der Tötung 2½ Monate nach der Impfung keine Tuberkulose aufwies. Eingehender beschäftigten sich Strauss und Dubarry (8) mit dieser Frage. Sie verwendeten dabei steriles destilliertes Wasser und sterilisiertes Ourcqwasser und fanden Lebensfähigkeit der eingesäten Tuberkelbacillen bis zu 115 bzw. 95 Tagen. Dabei gingen sie so vor, daß sie nach Ablauf verschiedener Zeiten zu den im Wasser aufgeschwemmten Tuberkelbacillen Glycerinbouillon im Ueberschuß zusetzten und dann das nachherige Auswachsen zu Kolonien beobachteten. Aber auch sie beschränkten sich nur auf 2 Virulenzprüfungen, indem sie das eine Mal 27 Tage lang im Ourcqwasser aufgehobene Tuberkelbacillen an ein Meerschweinchen verimpften, das bei der Tötung 2 Monate nachher keine Spur von Tuberkulose zeigte. Das zweite Mal injizierten sie eine 95 Tage lang im gleichen Wasser gehaltene Probe. Bei der Obduktion nach 2 Monaten konstatierten sie einen tuberkulösen Abszeß an der Impfstelle ohne generalisierte Tuberkulose. Sie kommen daraufhin zum Schlusse, daß die Virulenz der Tuberkelbacillen sich im Gefolge eines langen Aufenthaltes im Wasser abzuschwächen scheine, was für andere pathogene Bakterien nach ihren Ermittlungen nicht gelte. Ganz abweichend davon sind die Resultate, welche Muehld (9) erhielt, der tuberkelbacillenhaltiges Sputum mit Spreewasser oder mit Schmutzwasser aus einem Regentümpel versetzte. Es blieben dabei die Tuberkelbacillen 3 Monate lang vollkommen ungeschwächt und bedingte es keinen Unterschied, ob die Proben bei Zimmertemperatur im vollen Tageslicht oder im Dunkel des Brutschrankes gehalten wurden, ja selbst allen Witterungseinflüssen ausgesetzte Proben zeigten das gleiche Verhalten. Erst vom 4. Monate an machte sich eine zunehmende Verminderung der Virulenz geltend, doch waren die Bacillen erst nach 7 Monaten vollständig avirulent. Schließlich gehört noch eine Angabe Abbas (10) hierher, der gelegentlich seiner bakteriologischen Untersuchungen von Weihwasser vollvirulente Tuberkelbacillen darin durch den Impfversuch nachweisen konnte. Doch fehlt da naturgemäß jegliche Schätzung über die Länge der Zeit, während welcher die Bacillen darin verweilt haben mochten.

Soweit die spärlichen Angaben der Literatur, wonach wir uns berechtigt hielten, bei unseren ersten Versuchen über Leukocyt bzw. Lymphocyt und Tuberkelbacillus eine isotonische Kochsalzlösung (0,9) als vollkommen indifferente Vergleichsprobe verwenden zu können. Aber schon dabei zeigte sich ein so sonderbares Verhalten der darin aufgeschwemmten Bacillen, daß wir später gelegentlich, soweit es die äußeren Verhältnisse gestatteten, darüber noch Versuche anzustellen uns genötigt sahen. Darüber möchten wir nun bei dieser Gelegenheit im Zusammenhang berichten.

I. Versuchsreihe.

Beginn derselben am 25. Jan. 1905. Es wurde darüber zum Teil schon in „Leukocyt und Tuberkelbacillus“ berichtet. Dabei versetzten wir gleiche Mengen einer dichten Aufschwemmung von Tuberkelbacillen des Typus humanus in isotonischer (0,9-proz.) Kochsalzlösung mit größeren Mengen isotonischer Kochsalzlösung einerseits, mit Bouillon andererseits. Je zwei Proben davon kamen sofort zur Verimpfung, andere wurden im Brutschrank, mit Gummikappen verschlossen, aufbewahrt und nach 2, 8, 24 und 48 Stunden an Meerschweinchen subkutan verimpft, so zwar, daß jedes Meerschweinchen immer die gleiche Menge suspendierter Bacillen erhielt. Wöchentliche Wägung der Tiere.

1) Kochsalzreihe.

Probe	Zeit der Verimpfung	Verhalten der Meerschweinchen nach den Gewichtszahlen	Verendet	Tagesab- bzw. -zunahme in %
1. Impftier.				
frisch	sofort nach der Mischung	215 — 195 + 208 — 205 = 205 — 10	24. Tag	— 0,42
2. Impftier.				
frisch	sofort nach der Mischung	185 + 190 — 185 + 202 — 190 = 190	31. Tag	+ 0,16
I.	nach 2 Stdn.	+ 5 270 — 250 + 263 + 264 = 264 — 240 — 230	43. „	— 0,93
II.	„ 8 „	— 40 215 = 215 — 205 — 202 + 205 — 10	getötet 29. Tag	— 0,34
III.	„ 24 „	225 + 230 — 220 + 250 + 275 — 257 + 280 + 300 = 300 = 300 + 315 — 275 = 275 + 290 — 275 — 270 — 260 + 288 + 290 + 300 + 75	100. „	+ 0,75
IV.	„ 48 „	215 + 222 — 215 + 235 — 220 + 270 — 240 — 236 + 260 = 260 — 230 + 235 = 235 + 260 + 45	88. „	+ 0,51

Obduktionsbefund der Impftiere.

Die Impftiere der frischen Proben, ferner die Proben nach 2 und 48 Stunden zeigten das Bild der Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung ohne wesentliche Differenzen. Das am 29. Tage nach der Impfung getötete Tier der Probe von 8 Stunden zeigte ein kleines verkästes Infiltrat der Impfstelle, verkäste regionäre Lymphdrüsen und einzelne Tuberkel der Lunge. Bei Allgemeintuberkulose wies das Impftier der Probe von 24 Stunden hanfkorngroße Tuberkel der Leber bei leichter Cirrhose derselben auf, in der Lunge zahlreiche bis hanfkorngroße, glattwandige Höhlen (Bronchiektasien).

Die Infiltrate der Impfstelle zeigten in ihrem zeitlichen Auftreten insofern Differenzen, als mit Zunahme der Einwirkungsdauer der Kochsalzlösung eine Verzögerung der Infiltratbildung sich bemerkbar machte von 1 Woche bei der frischen, in allmählicher Steigerung bis zu 5 Wochen bei der Probe nach 48 Stunden.

2) Bouillonreihe.

Probe	Zeit der Verimpfung	Verhalten der Meerschweinchen nach den Gewichtszahlen	Verendet	Tagesab- bzw. -zunahme in %
1. Impftier.				
frisch	sofort nach der Mischung	190 + 200 + 210 = 210 — 190 — 183 + 193	36. Tag	+ 0,04
2. Impftier.				
frisch	sofort nach der Mischung	+ 3 290 + 300	8. Tag	+ 0,42
I.	nach 2 Stdn.	+ 10 230 = 230 + 233 + 237 + 7	23. „	+ 0,13
II.	„ 8 „	215 — 210 + 218 — 200 — 200 — 15	getötet 29. Tag	— 0,14
III.	„ 24 „	180	3. „	
IV.	„ 48 „	210 + 213 — 208 — 205 — 195 + 197 — 13	35. „	— 0,18

Obduktionsbefund der Impftiere.

Die Impftiere der 1. frischen Probe, ebenso die der II. und IV. Probe nach 8 bzw. 48 Stunden wiesen eine generalisierte Impftuberkulose auf ohne wesentliche Besonderheiten. Das Tier der 1. Probe, welche nach 2 Stunden zur Verimpfung gekommen war, zeigte ein verkästes Infiltrat der Impfstelle, verkästes Inguinal- und Psoasdrüsen, sonst keine anderweitige Manifestation des tuberkulösen Prozesses. Die schon bald nach der Impfung eingegangenen Tiere der 2. frischen Probe und der III. Probe von 24 Stunden zeigten weder an der Impfstelle noch sonstwo im Körper für Tuberkulose spezifische Veränderungen, sondern nur hochgradigen Marasmus. Tuberkelbacillen ließen sich aber an der Impfstelle selbst in reichlicher Menge, in abnehmender Zahl in den inguinalen und ferner in den Psoaslymphdrüsen nachweisen. Dabei verdient bemerkt zu werden, daß aus dem betreffenden Impfmateriel beschickte Nährböden (Glycerinagar, Glycerinkartoffel, Bouillon, gewöhnlicher Agar und Traubenzuckeragar anaërob) in beiden Fällen durchaus steril blieben, daß also der Tod nicht durch eine anderweitige bakterielle Verunreinigung bedingt sein konnte.

Im Auftreten der Infiltrate an der Injektionsstelle zeigte sich bei dieser Reihe ein durchaus gleichförmiges Verhalten aller Proben; überall traten sie in der 2. Woche nach gesetzter Infektion auf.

II. Versuchsreihe.

Beginn derselben am 29. März 1905. Ausgangspunkt bildete eine ca. 6 Wochen alte Kultur eines für Meerschweinchen stark virulenten Stammes vom Typus humanus. Davon wurde eine dichte Emulsion in 0,9-proz. Kochsalzlösung gemacht, wovon je 1 ccm in je 20 ccm isotonischer Kochsalzlösung, Bouillon und sterilen destillierten Wassers verteilt wurden. Je zwei Proben davon kamen sofort zur Verimpfung, je eine nach 7-tägigem Aufenthalt im Brutschrank, eine dritte Probe endlich nach 2-monatlichem Verweilen der Proben bei 37°. Von der Aufschwemmung in destilliertem Wasser wurde noch die Verimpfung einer 17-tägigen Probe eingeschoben.

1) Kochsalzreihe.

Probe	Zeit der Verimpfung	Verhalten der Meerschweinchen nach den Gewichtszahlen	Lebensdauer	Tagesab- bzw. -zunahme in %
1. Impftier.				
frisch	sofort nach der Mischung	$217 + 230 - 220 + 250 - 210 + 215 + 220 = 220 + 235 - 230 - 220 - 205 - 12$	37 Tage	- 0,15
2. Impftier.				
frisch	sofort nach der Mischung	$233 + 240 = 240 + 250 - 230 - 225 = 225 + 230 - 200 + 210 - 205 + 215 - 210 - 200 - 33$	44 Tage	- 0,32
I.	n. 7 Tg.	$295 - 255 + 285 - 280 + 290 - 265 - 260 + 292 - 280 - 260 + 270 + 275 - 20$	42 „	- 0,16
III.	n. 2 Mon.	$215 + 220 - 200 + 220 + 225 - 220 = 220 - 200 + 220 - 180 + 200 = 200 = 200 = 200 - 190 + 210 - 190 - 25$	60 „	- 0,19

Obduktionsbefund der Impftiere.

Die Impftiere aller Proben wiesen Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung ziemlich hohen Grades auf. Dabei verdient nur der Obduktionsbefund des 2. Impftieres der frischen Probe noch besondere Erwähnung insofern, als sich dabei die Leber gleichzeitig leicht granuliert zeigte, die Milz durch perisplenitische Adhäsionen an der Thoraxwand angelötet war und ein Lungenoberlappen diffuse pneumonische Infiltration zeigte.

Auch hier zeigte sich analog der Kochsalzreihe des I. Versuches eine zunehmende Verzögerung der Infiltratbildung von 2 Wochen bei der frischen, bis zu 5 Wochen bei der letzten Probe.

2) Bouillonreihe.

Probe	Zeit der Verimpfung	Verhalten der Meerschweinchen nach den Gewichtszahlen	Lebensdauer	Tagesab- bzw. -zunahme in %
1. Impftier.				
frisch	sofort nach der Mischung	223 + 240 + 260 — 240 — 230 + 235 + 240 — 205 — 13	26 Tage	— 0,21
2. Impftier.				
frisch	sofort nach der Mischung	272 — 265 — 260 + 285 — 255 — 230 + 250 = 250 — 210 — 62	26 Tage	— 0,88
I.	n. 7 Tg.	305 — 295 + 320 + 330 + 335 = 335 + 340 — 332 — 325 — 310 + 335 — 320 = 320 = 320 — 290 + 300 = 300 — 290 = 290 — 15	62 „	— 0,08
III.	n. 2 Mon.	215 + 220 = 220 + 230 = 230 = 230 + 250 = 250 = 250 — 230 + 250 + 270 + 300 + 320 — 310 + 340 — 320 + 360 + 390 + 400 = 400 — 395 + 420 — 400 = 400 + 440 + 450 — 440 + 460 — 450 + 470 + 490 + 500 — 480 + 510 — 500 — 480 = 480 + 490 = 490 + 500 + 520 — 500 = 500 = 500 + 285	∞ getötet nach 188 Tagen	+ 0,70

Obduktionsbefund der Impftiere.

Das Impftier der III. Probe erwies sich bei der Tötung 188 Tage nach der Infektion vollkommen frei von tuberkulösen Veränderungen. Alle übrigen Tiere zeigten Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung ziemlich gleich hohen Grades ohne weitere Besonderheiten.

Die Infiltratbildung an der Impfstelle trat bei den Tieren der frischen Probe in der 3. Woche auf, beim nach 7 Tagen injizierten Tiere nach 5 Wochen, während beim Tier der III. Probe überhaupt keine lokale Infiltratbildung, durch Palpation wenigstens, feststellbar war.

3) Wasserreihe.

Probe	Zeit der Verimpfung	Verhalten der Meerschweinchen nach den Gewichtszahlen	Lebensdauer	Tagesab- bzw. -zunahme in %
1. Impftier.				
frisch	sofort nach der Mischung	223 + 230 — 225 + 245 — 230 — 210 — 190 — 175 + 195 — 185 — 155 — 68	34 Tg.	— 0,89
2. Impftier.				
frisch	sofort nach der Mischung	260 + 270 — 260 + 280 — 265 + 275 — 250 + 255 — 250 + 255 — 247 = 247 — 220 — 40	42 Tg.	— 0,36
I.	n. 7 Tg.	185 — 170 — 143 — 42	8 „	— 2,83
II.	n. 17 Tg.	250 + 270 = 270 + 290 — 282 + 310 — 290 — 285 — 280 — 270 + 290 — 280 — 270 — 250 — 220 — 210 — 40	52 „	— 0,31
III.	n. 2 Mon.	180 + 200 = 200 = 200 + 205 — 195 = 195 — 170 = 170 — 160 + 170 = 170 — 160 + 170 — 160 + 180 — 170 — 10	60 „	— 0,09

Obduktionsbefund der Impftiere.

Die Meerschweinchen dieser Reihe zeigten alle Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung hohen Grades von ziemlich gleicher Intensität. Eine besondere Erwähnung verdient nur das Impftier der I. Probe, die nach 7 Tagen zur Verimpfung gelangte. Dieses Tier zeigte nämlich nur hochgradigen Marasmus und leicht geschwollene Lymphdrüsen der Impfstelle; die letztere selbst war vollkommen unverändert.

Die Infiltrate der Impfstelle traten bei den Impftieren der frischen Probe in der 3. Woche auf, beim Tiere der II. Probe nach 4 Wochen, beim Tiere der III. Probe nach 5 Wochen.

III. Versuchsreihe.

Beginn derselben am 29. März 1906. Verwendung des gleichen Typus humanus-Stammes wie bei den übrigen Versuchen, aber in bedeutend dünnerer Aufschwemmung. Auch hier wurden von einer Ausgangsaufschwemmung in destilliertem Wasser gleiche Bacillenmengen enthaltende Aufschwemmungen in 0,9-proz. Kochsalzlösung, in destilliertem Wasser und in sterilisierter Ringer-Loebischer Flüssigkeit gemacht. Letztere stellten wir uns nach der Formel $100 \text{ NaCl} + 2 \text{ CaCl}_2 + 2 \text{ KCl}$ derart her, daß wir zu einer 0,9-proz. Kochsalzlösung 0,034-proz. CaCl_2 und 0,023-proz. KCl hinzusetzten. Diese 3 Aufschwemmungen wurden in je 2 Hälften geteilt und nun zu der einen davon 3-proz. Glycerin zugesetzt. Die so erhaltenen 6 Aufschwemmungen wurden nun in einzelne Proben abgeteilt und gelangten sofort, nach 2 Tagen und nach 33 Tagen zur Verimpfung. Wöchentliche Wägung.

1) Kochsalzreihe.

Probe	Zeit der Verimpfung	Verhalten der Meerschweinchen nach den Gewichtszahlen	Lebensdauer	Tagesab- bzw. -zunahme in %
a) ohne Glycerinzusatz.				
I.	sofort nach der Mischung	$300 = 300 + 310 + 320 + 335 - 300 - 280 - 270$ $- 250 = 250$ — 50	54 Tg.	— 0,31
II.	n. 2 Tg.	$310 + 320 - 300 + 350 - 320 - 290 - 260 - 230$ $- 210$ — 100	54 „	— 0,59
III.	n. 33 Tg.	$270 = 270 - 240 - 230 - 190 = 190 - 160$ — 110	37 „	— 1,10
b) mit Glycerinzusatz.				
I.	sofort nach der Mischung	$400 - 390 + 400 - 390 = 390 - 360 - 320 = 320$ $- 290 - 260$ — 140	56 Tg.	— 0,62
II.	n. 2 Tg.	$340 + 350 = 350 + 400 + 410 + 430 - 400 - 350$ $= 350 + 370 - 330 = 330 - 310 - 300$ — 40	84 „	— 0,14
III.	n. 33 Tg.	$340 - 320 + 340 + 350 - 320 + 360 - 320 + 350$ $+ 370 + 420 = 420 + 430 + 440 + 450 + 490 - 440$ $+ 470 - 400 = 400 - 390 + 440 - 380 = 380$ + 40	getötet nach 155 Tg.	+ 0,07

Obduktionsbefund der Impftiere.

Die Impftiere der Reihe ohne Glycerinzusatz zeigten sämtlich Impftuberkulose mit allgemeiner Ausbreitung. Dabei machte sich der geringere Bacillengehalt der injizierten Flüssigkeit durch mehr oder weniger ausgesprochene zirrhatische Veränderungen der Leber und meist kolossaler Milzschwellung bemerkbar. Auch zeigten sich hier und da Höhlenbildungen in der Lunge. Ein gleiches Verhalten boten auch die Impftiere I und II der mit Glycerin beschickten Proben. Die mit Glycerin versetzte Probe III, welche 33 Tage nach der Mischung zur Verimpfung gelangte, rief keine Tuberkulose des Impftieres hervor. Das Tier erwies sich nämlich bei der Tötung 155 Tage nach der gesetzten Infektion vollkommen frei von tuberkulösen Veränderungen.

Die Infiltratbildung begann bei den in reiner Kochsalzlösung aufgeschwemmten Bacillen durchaus in der 4. Woche. Anders bei den mit Glycerin versetzten Proben. Während hier bei der sofort verimpften Probe ebenfalls mit Beginn der 4. Woche eine Infiltratbildung sich bemerkbar machte, verzögerte sich dieselbe bei der II. Probe um weitere 2 Wochen, um dann bei Probe III überhaupt nicht mehr aufzutreten.

2) Wasserreihe.

Probe	Zeit der Verimpfung	Verhalten der Meerschweinchen nach den Gewichtsahlen	Lebensdauer	Tagesab- bzw. -zunahme in %
a) ohne Glycerinzusatz.				
I.	sofort nach der Mischung	340 + 350 = 350 — 340 — 340 ± 0	21 Tg.	0
II.	n. 2 Tg.	350 — 340 — 300 — 50	15 „	— 0,95
III.	n. 33 Tg.	330 + 350 — 330 + 340 — 320 — 300 — 270 = 270 — 220 — 110	51 „	— 0,65
b) mit Glycerinzusatz.				
I.	sofort nach der Mischung	365 + 390 — 360 — 330 — 35	13 Tg.	— 0,73
II.	n. 2 Tg.	315 + 320 — 290 + 330 + 340 = 340 = 340 + 360 + 380 + 400 + 410 + 430 — 420 + 440 = 440 — 430 — 410 + 450 + 490 — 440 + 480 + 490 + 500 = 500 + 560 — 550		
III.	n. 33 Tg.	400 + 420 + 430 + 450 — 400 + 440 + 480 = 480 + 490 + 540 — 500 + 520 + 550 + 560 + 590 — 550 + 610 — 580 = 580 = 580 + 630 — 560 = 560 + 160	getötet nach 155 Tg.	+ 0,26

Obduktionsbefund der Impftiere.

Bei den in reinem Wasser aufgeschwemmten Proben zeigte das Impftier der III. Probe allgemeine Tuberkulose mit zirrhatischen Veränderungen der Leber und mächtigem Milztumor. Bei der II. Probe außerdem noch eine starke Vergrößerung der mesenterialen Drüsen, die zu einem kirschengroßen Paket angeschwollen sind. Diese Neigung zur hypertrophischen Form der Tuberkulose ist noch ausgeprägter bei der I. sofort verimpften Probe, indem sich hier die Leber von hanfkorn- bis bohnen- großen einzelnen Knoten durchsetzt zeigt, eben solche, nur noch spärlichere Knoten weist die Milz auf, 2 Knoten die Lunge. Die mesenterialen Drüsen bilden ein großes Paket. Es besteht einseitiger Hydrothorax. Bei den mit Glycerin versetzten Proben tritt die knotenbildende Form der Tuberkulose nur bei der I. Probe auf, bei welcher die mesenterialen Drüsen sehr stark angeschwollen und mit der Leber verwachsen sind. Außerdem finden sich einzelne Knoten von beträchtlicher Größe in der Leber, mehrere in der Milz, ein Knoten in der Lunge. Die Impftiere der II. und III. Probe verhalten sich vollkommen normal, das der II. Probe wirft am 2. Nov. 3 Junge, die sich vollkommen normal entwickeln. Das Impftier der III. Probe wird am 2. Okt. getötet und erweist sich vollkommen frei von Tuberkulose.

Die histologische Untersuchung der großen Knoten ergibt mächtige Anhäufungen polynukleärer Rundzellen mit wenig Neigung zu Nekrose oder Verkäsung. Tuberkelbacillen sind darin nicht nachweisbar, in Gram-Präparaten finden sich auch sonst keine Mikroorganismen. Ebenso zeigen auch nach Unna gefärbte Schnitte keine Bakterien, im besonderen läßt sich auch der *Bacillus pseudotuberculosis rodentium* nicht nachweisen.

Bezüglich des Auftretens der Infiltratbildung zeigt sich zwischen den einzelnen Proben mit reinem Wasser kein Unterschied. Bei den mit Glycerin versetzten Proben trat in keinem der Fälle ein Infiltrat an der Impfstelle auf.

3) Ringer-Loeb-Reihe.

Probe	Zeit der Verimpfung	Verhalten der Meerschweinchen nach den Gewichtszahlen	Lebensdauer	Tagesab- bzw. -zunahme in %
a) ohne Glycerinzusatz.				
I.	sofort nach der Mischung	290 — 280 + 300 = 300 + 310 — 270 — 250 — 240 — 230 — 60	49 Tage	— 0,42
II.	n. 2 Tg.	350 — 340 — 310 + 330 — 290 — 270 — 260 — 250 — 240 — 110	55 „	— 0,57
III.	n. 33 Tg.	330 — 320 + 330 + 350 = 350 + 370 — 350 + 390 — 380 + 440 — 430 = 430 + 460 = 460 + 480 — 450 + 480 = 480 — 470 + 520 — 470 = 470 + 140	getötet nach 155 Tagen	+ 0,27
b) mit Glycerinzusatz.				
I.	sofort nach der Mischung	330 + 350 — 330 — 300 — 275 — 250 — 80	28 Tage	— 0,86
II.	n. 2 Tg.	360 = 360 — 330 + 365 — 360 — 340 — 300 — 290 — 280 + 290 — 265 — 95	70 „	— 0,38
III.	n. 33 Tg.	426 — 410 — 400 — 360 + 380 — 350 — 300 — 220 — 206	45 „	— 1,07

Obduktionsbefund der Impftiere.

Bei den Impftieren der in reiner Ringer-Loeb'scher Flüssigkeit aufgeschwemmten Proben I und II zeigt sich das gewöhnliche Bild der Impftuberkulose, nur weist die Leber entsprechend der schwächeren Infektion eine Granulierung ihrer Oberfläche auf. Das Impftier der III. Probe wurde in vollem Wohlbefinden getötet und erwies sich vollkommen frei von Tuberkulose. Bei den mit Glycerin versetzten Proben fand sich bei der I. Probe wieder die schon mehrfach in dieser Versuchsreihe beobachtete großknotige Tuberkuloseform, indem die mesenterialen Drüsen einen mächtigen Tumor bildeten und in der Leber große, höckerig über die Oberfläche hervorragende Knoten vorhanden waren. Beim Impftier der II. Probe äußerte sich diese Neigung nur mehr in mächtig entwickelten Halslymphomen und einem großen Lebertuberkel, während die stark vergrößerte Milz und ebenso die Leber daneben die typischen infarktähnlichen Nekroseherde aufwies. Auch das Impftier der III. Probe zeigte einige Besonderheiten, indem die Leber fast frei von Tuberkulose war, in der Milz sich spärliche größere Tuberkel fanden, die Lunge von sehr spärlichen miliaren Tuberkeln durchsetzt war.

Die lokale Infiltratbildung setzte bei den Proben I und II der reinen Ringer-Loeb'schen Aufschwemmung wie auch der mit Glycerin versetzten zur selben Zeit ein. Bei den III. Proben beider Reihen blieb sie überhaupt aus.

Als Ergänzung unserer Tabellen möchten wir noch zum Schlusse Versuche mitteilen, die von Bachrach und Bartel (11) als Kontrollversuche bei ihren Untersuchungen über den Einfluß von Hefenukleinsäure auf die Virulenz menschlicher Tuberkelbacillen angestellt worden sind. Der besseren Vergleichbarkeit wegen stellen wir sie in derselben Weise tabellarisch zusammen, wie wir dies bei unseren Fällen getan haben. Für uns kommt zunächst eine am 29. Dez. 1905 begonnene Versuchsreihe in Betracht, die sich mit dem Einfluß des destillierten Wassers auf Tuberkelbacillen beschäftigt.

Reihe mit destilliertem Wasser.

Probe	Zeit der Verimpfung	Verhalten der Meerschweinchen nach den Gewichtszahlen	Lebensdauer	Tagesab- bzw. -zunahme in %
I.	sofort nach der Mischung	175 — 170 = 170 — 160 — 140 — 35	27Tg.	— 0,73
II.	n. 3 Tg.	215 — 190 — 185 + 190 + 235 — 225 — 220 + 260 + 280 — 270 = 270 — 240 = 240 + 25	78 „	+ 0,005
III.	n. 5 Tg.	230 — 205 + 210 = 210 + 255 — 250 + 265 + 280 — 190 + 210 + 245 — 230 + 280 + 285 + 300 — 270 + 300 — 280 — 270 + 290 = 290 + 310 — 300 + 310 — 290 — 270 — 260 + 270 = 270 + 280 + 290 = 290 + 300 — 280 + 320 — 270 + 280 + 50	242 „	+ 0,08
IV.	n. 14 Tg.	240 = 240 = 240 + 260 + 275 + 285 = 285 + 290 + 310 + 355 — 330 — 310 + 350 + 360 — 355 + 360 + 380 — 360 + 380 + 390 — 380 + 410 = 410 — 400 — 380 = 380 = 380 + 390 + 400 — 380 = 380 = 380 + 430 — 420 + 430 + 190	getötet nach 234Tg.	+ 0,2
V.	n. 38 Tg.	190 = 190 + 215 + 220 + 235 + 255 + 265 — 250 + 280 = 280 + 290 + 320 + 350 — 340 + 360 — 350 + 370 + 400 — 390 — 380 — 370 + 390 = 390 = 390 + 400 — 390 + 410 — 400 + 410 + 430 — 415 + 450 + 260	getötet nach 209Tg.	+ 0,65

Obduktionsbefund der Impftiere.

Die Tiere der I. und II. Probe zeigten das gewöhnliche Bild allgemeiner Impftuberkulose. Das Tier der III. Probe zeigte außer Marasmus und brauner Atrophie der Organe nur einzelne unregelmäßige gelbliche Leberherde, die sich bei mikroskopischer Untersuchung als Nekrosen mit kleinen Hämorrhagien erwiesen. Die Impftiere der III. und IV. Probe zeigten bei der Tötung keine Spur von Tuberkulose.

Eine zweite uns hier interessierende Versuchsreihe genannter Autoren wurde am 17. Okt. 1906 begonnen und beschäftigt sich mit dem Verhalten von Tuberkelbacillen in einer 1-proz. wässrigen Nährstoff-Heyden-Lösung.

Reihe mit Nährstoff Heyden.

Probe	Zeit der Verimpfung	Verhalten der Meerschweinchen nach den Gewichtszahlen	Lebensdauer	Tagesab- bzw. -zunahme in %
I.	sofort nach der Mischung	315 — 310 — 290 — 250 — 230 — 220 — 200 — 115	35 Tg.	— 1,04
I.	„	320 + 325 — 300 — 270 — 220 — 200 — 120	25 „	— 1,5
II.	n. 2 Tg.	260 — 250 — 200 — 190 + 210 + 230 + 240 — 220 — 40	54 „	— 0,03

Probe	Zeit der Verimpfung	Verhalten der Meerschweinchen nach den Gewichteazahlen	Lebensdauer	Tageab- bzw. -zunahme in %
II.	„ 2 Tg.	285 — 280 — 240 — 230 + 245 + 250 + 260 — 240 — 45	54 Tg.	— 0,29
III.	„ 9 „	310 = 310 — 230 — 200 — 190 — 120	22 „	— 1,7
III.	„ 9 „	355 + 370 — 290 — 280 — 260 — 240 — 115	34 „	— 0,09
IV.	„ 19 „	215 + 220 = 220 + 290 + 300 — 285 — 270 — 240 + 25	43 „	+ 0,27
IV.	„ 19 „	300 + 310 + 330 — 290 — 280 — 275 — 240 — 220 — 80	43 „	— 0,6
V.	„ 37 „	260 + 290 — 205 — 200 — 60	25 „	— 0,9
V.	„ 37 „	270 = 270 + 305 — 210 + 215 + 220 — 190 — 80	41 „	— 0,7
VI.	„ 78 „	330 — 310 — 295 — 265 — 240 — 90	24 „	— 1,1
VII.	„ 120 „	250 = 250 — 225 — 185 — 65	20 „	— 1,3

Obduktionsbefund der Impftiere.

Alle Impftiere dieser Reihe zeigten das ausgesprochene Bild allgemeiner Impftuberkulose.

Zusammenfassung.

Betrachten wir zunächst das Verhalten der Virulenz der Tuberkelbacillen in reinem destillierten Wasser, so stehen uns dafür 4 Proben aus unseren eigenen Versuchen (Versuchsreihe III, 2) zur Verfügung und zwar 2 Proben, welche sofort nach der Mischung zur Verimpfung gelangten, eine nach 2-tägigem Aufenthalt im Brutschrank, eine endlich nach 33 Tage langem Aufheben der aufgeschwemmten Tuberkelbacillen. Dabei zeigt sich nach 2 Tagen noch keine Abnahme der Virulenz der eingesäten Keime, mit 33 Tagen aber tritt sie sehr deutlich in Erscheinung, indem das damit infizierte Tier doppelt so lange am Leben bleibt als die Impftiere der frischen und der 2 Tage alten Probe. Noch deutlicher wird dieser Virulenz aufhebende Einfluß des reinen destillierten Wassers in einer Versuchsreihe, die Bachrach und Bartel angestellt haben. Dabei kam eine Probe sofort, eine nach 3-tägigem Verweilen im Brutofen, eine nach 5 Tagen, eine nach 14 Tagen und eine nach 38 Tagen zur Verimpfung. Schon bei der 3 Tage alten Probe hatte die Virulenz der Tuberkelbacillen derart gelitten, daß das Tier fast 3mal so lange lebte wie das Impftier der frischen Probe und dabei im Gegensatz zum gewöhnlichen Verlauf der Gewichtskurve tuberkulöser Meerschweinchen sein Endgewicht höher war als das Gewicht zur Zeit der Impfung. Von der 5 Tage alten Probe an waren die Bacillen fast vollkommen avirulent geworden, indem sie nur mehr nekrotische Herde in der Leber ohne spezifisch tuberkulöse Veränderungen verursachten, während die 14 und 38 Tage alten Proben überhaupt keine krankmachende Wirkung mehr entfalteten. Worauf der Unterschied in diesen beiden Versuchsreihen zurückzuführen sei, läßt

sich kaum angeben, zumal bei beiden derselbe Tuberkelbacillienstamm zur Verwendung kam und die Aufschwemmungen annähernd gleich dicht gewesen sein dürften, da ja in beiden Versuchsreihen die mit den frischen Proben infizierten Tiere fast in der gleichen Zeit der Infektion erlagen (21 und 27 Tage). Immerhin kann uns die Differenz zwischen beiden Reihen keineswegs wunder nehmen, seitdem wir durch die sorgfältigen Untersuchungen Fickers (12) wissen, wie die verschiedensten scheinbar ganz geringfügigen und zu vernachlässigenden Momente für das Leben und Absterben von Mikroorganismen in destilliertem Wasser von Ausschlag gebender Bedeutung sind. Da kommt es nicht nur auf die Zahl der eingesäten Keime an, indem z. B. bei geringer Menge der Tod der Mikroorganismen schon nach 1 Stunde eintritt, bei 60 000—400 000 Keimen pro Kubikcentimeter erst innerhalb von 2—3 Tagen, 10 000 000 Choleravibrionen sich wochenlang lebend erhalten, 40—60 000 000 eine Lebensdauer von über 7 Monaten zeigen, sogar mit Vermehrung der ursprünglichen Keimzahl. Auch das Alter der betreffenden Bakteriengeneration ist von Einfluß, indem jüngere Kulturen bedeutend widerstandsfähiger sind als ältere. Ferner spielt dabei eine große Rolle die Menge des bei der Aufschwemmung der Mikroben mitgenommenen Nährmaterials, auf welchem sie vorher gewachsen waren. Ein weiterer Umstand, der geeignet ist, Verschiedenheiten zu bedingen, ist die sogenannte oligodynamische Wirkung von v. Nägeli (13). Darunter versteht v. Nägeli die Wirkung minimalster Metallspuren, die ins Wasser beim Durchströmen durch Metallröhren regelmäßig übergehen, sich sogar dann noch geltend machen, wenn man nicht mit Metall in Berührung gekommenes Wasser selbst in sorgfältig durchgespülten Glasgefäßen sammelt, worin früher oligodynamisches Wasser gewesen war. Vor dieser Wirkung kann man sich nur durch längeres Reinigen der Gläser mit konzentrierten Säuren schützen. Auch auf Choleravibrionen äußert sich diese oligodynamische Wirkung im Sinne einer Bakterizidie. Eine fernere Quelle für Unregelmäßigkeiten in den Versuchsergebnissen bildet die Löslichkeit der Glaswände namentlich beim Erhitzen, wie es das Sterilisieren der verwendeten Lösungen mit sich bringt. Den Chemikern schon seit langem als Fehlerquelle quantitativer Bestimmungen bekannt und von Mylius und Foerster (14), später von Foerster allein (15) einer genauen quantitativen Untersuchung unterzogen, wurde diese verschiedene Löslichkeit bei biologischen Fragen zuerst in pflanzenphysiologischen Untersuchungen von Molisch (16) und Beneke (17) eingehend berücksichtigt. Ficker zeigte, daß dadurch allein schon sonst so deletäres destilliertes Wasser zu einem guten Konservierungsmittel für Bakterien werden könne, weshalb er dann zu seinen späteren Versuchen nur mehr Jenenser Gläser benutzte, während Beneke (18) bei seinen jüngsten Untersuchungen über den Mineralstoffbedarf von Bakterien Kulturgefäße aus geschmolzenem Bergkristall in Anwendung brachte, da selbst Jenenser Glas etwas Mg, Spuren von Zn und möglicherweise von Ca an die umgebende Flüssigkeit abgibt.

Daß auch beim zählebigen Tuberkelbacillus kleine Differenzen im Aufschwemmungsmedium von großem Einfluß sind, zeigt eine andere Versuchsreihe von uns (II, 3), wo von einer dichten Aufschwemmung in 0,9-proz. Kochsalzlösung ausgegangen wurde und davon ein kleiner Bruchteil in einer größeren Menge destillierten Wassers verteilt wurde. Die Mengenverhältnisse waren dabei ungefähr so gewählt, daß 1 ccm der Kochsalzaufschwemmung auf 20 ccm destillierten Wassers kam, die

jetzige Suspensionsflüssigkeit also einer 0,04-proz. NaCl-Lösung entsprach. Dabei verfügen wir über 5 Proben und zwar 2, welche sofort nach der Mischung zur Verimpfung gelangten, eine, die nach 7-tägigem Verweilen im Thermostaten injiziert wurde, wegen vorzeitigen Todes des Impftieres aber ausscheidet, eine nach 17 Tagen und eine nach 2 Monaten. Bei dieser Reihe nun zeigt sich noch nach 17 Tagen kein wesentlicher Unterschied im Impfresultat, während freilich die nach 2 Monaten verimpfte Probe schon eine deutliche Abnahme der Virulenz der aufgeschwemmten Keime erkennen läßt, indem das Tier fast doppelt so lange am Leben bleibt und auch einen bedeutend geringeren Gewichtsverlust aufweist, wie die Impftiere der früheren Proben (0,09 pro 100 g des Ausgangsgewichtes und pro Tag nach der gesetzten Infektion gegen 0,52 im Durchschnitt bei den vorausgegangenen Proben).

Daß aber auch derartiges Wasser von höherer osmotischer Konzentration als reines destilliertes Wasser, daher mit weniger stürmisch verlaufender Plasmolyse auf Tuberkelbacillen noch hochgradig Virulenz vermindern wirken kann, beweisen uns die Versuche von Chantemesse und Vidal (7), die im Seinewasser 15 Tage lang aufgeschwemmt gehaltene Tuberkelbacillen im Tierversuch gänzlich unwirksam fanden. Dabei besitzt das Seinewasser annähernd die gleiche osmotische Konzentration wie die in unseren letzterwähnten Versuchen verwendete 0,04-proz. Kochsalzlösung. Denn nach den uns zugänglichen 4 chemischen Analysen des Seinewassers (19, 20) enthält dieses Flußwasser im Durchschnitt pro Liter:

0,1365 g	kohlensauen Kalk,
0,048	„ kohlensaure Magnesia,
0,0345	„ schwefelsauen Kalk,
0,021	„ schwefelsaure Magnesia,
0,023	„ Chlornatrium,
0,015	„ Eisenoxyd.

Berechnet man nun daraus nach dem Vorgang von Koeppe (21) die Anzahl der Molionen im Liter, so erhält man bei Berücksichtigung des Umstandes, daß jedem Kation ein Anion entsprechen muß, eine osmotische Konzentration von 0,005821, was rechnerisch der osmotischen Konzentration einer 0,034-proz. Kochsalzlösung gleichkommt. Ähnliche Zahlen dürften wohl auch für das Ourcqwasser gelten, worüber uns keine Analyse zugänglich war. Auch bei diesem Wasser fanden Strauss und Dubarry (8) nach 27 Tagen Avirulenz eingesäter Tuberkelbacillen.

Daß überhaupt die Hauptursache der deletären Wirkung des Wassers nicht in seiner geringen osmotischen Konzentration, sondern vielmehr im Mangel an Nährstoffen zu suchen ist, erhellt aus einer weiteren Versuchsreihe von Bachrach und Bartel (11), wobei sie Tuberkelbacillen in 1-proz. Nährstoff-Heyden-Lösung aufschwemmten. Da dieser Nährstoff 6 Proz. Salze enthält, so stellt die so bereitete Suspensionsflüssigkeit eine 0,06-proz. Salzlösung dar, ist also nur um wenig konzentrierter als das Seinewasser. Und doch sehen wir bei allen Proben, 2 sofort verimpften, 2 nach 2 Tagen, 2 nach 9 Tagen, 2 nach 19 Tagen, 2 nach 37 Tagen, 1 nach 78 Tagen und die letzte nach 120 Tagen keine Abschwächung der Tuberkelbacillenvirulenz eintreten. Dadurch werden auch die auf den ersten Blick ganz abweichenden Resultate Mueholds (9) verständlich. Dieser Autor arbeitete, wie erwähnt, unter anderem auch mit Spree- und Regenwasser und fand die Tuberkelbacillen darin noch nach 102 bzw. 131 Tagen un-

geschwächt virulent, nach 162 bezw. 197 Tagen waren sie zwar abgeschwächt, aber immerhin noch infektionstüchtig und erst nach 211 Tagen hatten sie ihre krankmachende Fähigkeit vollständig eingebüßt. Nun zeigt das Spreewasser eine noch niedrigere osmotische Konzentration wie das Seinewasser. Denn nach der Analyse von Bauer (22) enthält dieses Wasser pro Liter:

0,065 g kohlensauren Kalk,
 0,009 „ kohlensaure Magnesia,
 0,006 „ schwefelsaures Kalium,
 0,006 „ schwefelsaures Natrium,
 0,001 „ Chlornatrium,
 0,003 „ salpetersaures Natrium,
 0,013 „ Tonerde.

Die daraus abgeleitete Gesamtzahl der Molionen wäre dann 0,001301 g, was der osmotischen Konzentration einer 0,008-proz. NaCl-Lösung gleichkommt. Noch niedriger stellt sich die osmotische Konzentration des Regenwassers, dessen chemische Analyse nach Ladenburg (20) pro Liter folgende Mengen ergibt:

0,0114 g Chlornatrium,
 0,0017 „ kohlensaures Ammon,
 0,0019 „ salpetersaures Ammon,
 0,0101 „ schwefelsaures Natrium,
 0,0009 „ schwefelsaures Calcium,
 0,0024 „ organische Stoffe.

Daraus folgt eine osmotische Konzentration von 0,00071 g, die der einer 0,006-proz. Kochsalzlösung entspricht. Beide in Museholds Versuchen verwendete Suspensionsflüssigkeiten sind also bedeutend niedriger konzentriert als das Seinewasser, womit Chantemesse und Vidal arbeiteten und doch sehen wir das gerade entgegengesetzte Resultat. Die Erklärung dafür liegt wohl in dem Umstand, daß die französischen Autoren ihre Aufschwemmung aus einer Bacillenreinkultur herstellten, während Musehold tuberkelbacillenhaltiges Sputum zusetzte. Nun ist Sputum ein guter Nährboden für Tuberkelbacillen, wie aus den Untersuchungen Fickers (23) und Guyots (24) hervorgeht. Denn sowohl auf reinem Sputum als auch auf einem Nährboden, bestehend aus 1 Teil Sputum und 2 Teilen Rinderserum mit 2-proz. Glycerin, endlich auf festen Nährböden aus gleichen Teilen Sputum und Agar und 2-proz. Glycerin erzielten sie üppig wachsende Tuberkelbacillenkulturen. Daher gelten für Museholds Untersuchungen mit Fluß- und Regenwasser analoge Verhältnisse wie für Bachrachs und Bartels 1-proz. Nährstoff-Heyden-Lösung und dann passen ihre Ergebnisse vollkommen in den Rahmen aller bisher darüber ermittelten Tatsachen.

Vermag nun ein 3-proz. Glycerinzusatz destilliertes Wasser ebenfalls zu einem guten Konservierungsmittel für Tuberkelbacillen zu machen, wie es nach den bisherigen Resultaten selbst geringgradige Mengen von Nährmaterial zu tun imstande sind? Man sollte es erwarten, wenn man bedenkt, wie bedeutend Glycerin, den verschiedensten Nährböden zugesetzt, das Wachstum der Tuberkelbacillen begünstigt. Und doch lassen unsere Untersuchungen in Versuchsreihe III, 2b das gerade Gegenteil annehmen. Denn schon vom 2. Tage ab haben die Tuberkelbacillen ihre Virulenz vollständig verloren, so daß das Impftier dieser Probe (wie auch jenes vom 33. Tage) sich vollkommen normal entwickelt. Es wirkt also Glycerin keineswegs als Nähr-

material und so verstehen wir, warum es Proskauer und Beck (25) trotz der Mannigfaltigkeit der von ihnen geprüften Substanzen nicht gelingen konnte, ein geeignetes im gleichen Maße Wachstum beförderndes Substitutionsmittel dafür zu finden; es wird dadurch verständlich, daß selbst der chemisch so nahestehende Erythrit keinen Ersatz dafür abgeben konnte. Bei dem begünstigenden Einfluß des Glycerins kommt es eben nicht auf seinen chemischen Bau an, sondern auf sein physikalisches Verhalten und wir müssen uns auch nach dem Ergebnis unserer Versuche vollkommen der Meinung v. Lingelsheims (26) anschließen, der die Wirksamkeit des Glycerins auf die Beförderung der Osmose zurückführt. Daß Glycerin mit außerordentlicher Schnelligkeit in die Protoblasten höherer Pflanzen und auch der Bakterien eindringt, lehren uns die Versuche Fischers (27). Die dadurch erfolgende Durchtränkung der Bakterienwand ermöglicht dem Tuberkelbacillus, den eine dicke, sonst wenig durchlässige Wachshülle von der umgebenden Flüssigkeit trennt, einen rascheren Stoffwechsel und einen beschleunigten Stoffaustausch. So steigert sich seine Lebensenergie und seine Wachstumsfähigkeit, wenn er Glycerin in einem geeigneten Nährsubstrat findet. Andererseits machen sich schädliche Einflüsse des umgebenden Mediums viel rascher und viel eingreifender geltend. Im gleichen Sinne wirkt es ja auch bei den übrigen Bakterien, wie die Untersuchungen von Kinyoun (28) beweisen, wonach Glycerin die bakterizide Wirkung verschiedener Immun- und Normalsera steigert. Für den Ausfall unserer Versuche kommt ferner noch in Betracht, daß eine 3-proz. Glycerinlösung eine sehr hohe osmotische Konzentration besitzt, die nach der Berechnung aus dem isotonischen Koeffizienten einer 1,27-proz. NaCl-Lösung entspricht. Einer Erklärung bedarf endlich noch der rasche Tod des Impftieres der sofort verimpften Probe. Denn während das mit der gleich dichten, in Wasser aufgeschwemmten Bacillenemulsion geimpfte Meerschweinchen nach 21 Tagen zugrunde ging, erlag das Glycerintier schon nach 13 Tagen einer hochgradigen allgemeinen Tuberkulose. Wir müssen dabei Versuche Maraglianos (29) in Erwägung ziehen, wonach Glycerin zur Tuberkulinvergiftung gesunder Tiere ganz wesentlich beiträgt. Denn 0,5 g seiner proteina aquosa pro Hektogramm Meerschweinchen bleibt ohne Einfluß auf das Befinden des Tieres. Wird diese Menge aber mit der gleichen Menge Glycerin den Tieren injiziert, so gehen sie zugrunde. Ja schon an und für sich ist Glycerin für Meerschweinchen ein tödliches Gift, wie aus Untersuchungen Bahrdts (30) hervorgeht, wonach 2,5 g eines Gemenges von Glycerin mit physiologischer Kochsalzlösung zu gleichen Teilen 100 g gesunden Meerschweinchens tötet. Berücksichtigen wir diese Tatsache, so können wir uns leicht vorstellen, wie durch Summation der Tuberkelbacillenwirkung und der schädlichen Wirkung des Glycerins eine Beschleunigung des tuberkulösen Prozesses eintritt, die einen rasch tödlichen Verlauf der gesetzten Infektion bedingt.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Studien zur Ektoplasmatheorie.

I. Teil. Ueber die Kapselbildung beim Milzbrandbacillus.

[Aus dem hygienisch-bakteriolog. Institut der Jag. Universität in Krakau
(Vorstand: Prof. Dr. O. Bujwid).]

Von Dr. Philipp Eisenberg. Assistenten am Institute.

Bereits in meinen Arbeiten über „Neue Wege und neue Probleme in der Immunitätslehre I. und II.“ (diese Zeitschr. Bd. XLV) habe ich auf die Bedeutung hingewiesen, welche der Kapselbildung der Milzbrandbacillen als Prototyp der Bakterienveränderungen im infizierten Organismus zukommt. Durch eine Reihe von Untersuchungen, die man dort kurz besprochen findet, ist die Wichtigkeit der Kapselbildung für das Haften der Infektion festgestellt — es bleibt aber noch eine wichtige Frage zu erledigen, nämlich wie man sich das Zustandekommen dieser auffallenden Veränderung deuten soll. Zwei Ansichten stehen sich hier entgegen — eine teleologische und eine mechanistische — eine, die in der Kapselbildung eine zielstrebige Schutzvorrichtung der Bakterien sieht, die sich der bakterienfeindlichen Kräfte des Organismus zu erwehren suchen (Metschnikoff, Sawtschenko, Deutsch, Heim, Gruber-Futaki, Löhlein), und eine andere, die sie nur als morphochemischen Ausdruck bestimmter Stoffwechselvorgänge betrachtet (Migula, Binaghi, Bail, Stiennon, Hamm, Preisz, Verf., Ascoli). Schon an oben erwähnter Stelle wurde darauf hingewiesen, daß die von Bail festgestellte Tatsache der Kapselbildung in inaktivierten oder bakterizid unwirksamen Seris der teleologischen Betrachtung des Problems den Grund entzieht, indem daraus hervorgeht, daß bakterizide Wirkungen als Reiz für die Kapselbildung entbehrlich sind und celluläre Wirkungen kommen ja bei der Serumkultur überhaupt nicht in Betracht. Damit wird natürlich die Zweckmäßigkeit der Kapselbildung nicht geleugnet, die ja ganz zweifellos feststeht, es wird nur die Auffassung des Mechanismus dieses Vorgangs in rationelle Bahnen gelenkt. Unter Hinweis auf die Kapselbildung bei *Leuconostoc* und pathogenen Blastomyceten habe ich es plausibel gemacht, daß die Kapselbildung als Beantwortung eines bestimmten Nahrungsreizes zu betrachten ist, eine reaktive Hypertrophie des Ektoplasmas (richtiger der Bacillenmembran, wie im II. Teil ausgeführt wird). Von diesen Gesichtspunkten ausgehend schien es mir nun der Mühe wert, die Frage der Kapselbildung eingehend zu untersuchen, zumal die Serumkultur die Möglichkeit bietet, in vitro die Bedingungen dieses wichtigen Vorgangs vielfach zu variieren, was einen tieferen Einblick in das Wesen des Problems versprach, wenn gleich die Erfahrungen der Immunitätslehre während des letzten Dezenniums gegenüber den Ergebnissen der Reagenzglasversuche weitgehende Reserve gebieten.

Bezüglich der Technik des Kapselnachweises sei bemerkt, daß in Uebereinstimmung mit Heim, Hiss, Epstein, Buerger und Hamm die auflösende Wirkung des Wassers auf die Kapseln vermieden wurde, indem die Ausstriche, sofern es nicht flüssige Serumkulturen waren, mit Rinder Serum oder Ascites hergestellt wurden. Für die Fixation der Präparate ergaben Methylalkohol sowie Osmiumsäure nach Weiden-

reich-Hamm ungefähr gleich gute Resultate, Hitzefixation wurde unterlassen, da, wie später erwähnt wird, die Kapsel dabei schrumpft. Bei Untersuchung von tierischen Organen wurden mit Vorteil statt der Ausstriche Klatschpräparate nach Streit angefertigt, die sehr gute Uebersichtsbilder der Verteilung der Bacillen im Gewebe liefern. Zur Färbung kann man sich einer ganzen Reihe von Farbstoffen bedienen, vor allem verschiedener Pararosanilinviolette in stark verdünnter Lösung (kurze Färbungsdauer, um nicht zu überfärben), verschiedener Schleimfarbstoffe (Heim), der Methylgrün-Pyroninmethode nach Saathof, verschiedener rotstichiger Methylenblaulösungen, sowie verschiedener Methylenblau-Eosinmische. Ich verwandte meistens gelagerte Mansonsche Boraxmethylenblaulösung, die intensive Metachromasie der Kapseln gab, oder schwache und kurze Giemsa-Färbung. Zuweilen gelingt es auch bei der Färbung nach Gram oder Claudius (auch in verschiedenen noch zu besprechenden Modifikationen) die gramnegative Kapsel mit Eosin oder Safranin schön nachzufärben. Rübigersches Formalin-Gentianaviolett leistete mir eigentlich nicht mehr, als gewöhnliches Violett und ist im Gebrauch recht unangenehm. Wo es darauf besonders ankam, mit voller Sicherheit die Existenz der Kapsel festzustellen, wurde nur metachromatische Methylenblaufärbung als beweisend angesprochen, da negative Kapselfärbungen zu vieldeutig erscheinen.

Bezüglich der morphologischen Details sei zunächst auf die Polymorphie der Kapsel hingewiesen, entsprechend verschiedenen Entstehungs- und Altersbedingungen sowie als Ausdruck individueller Differenzen, die in der Kapselbildung stark zutage treten. Die erste Andeutung der Kapselbildung erscheint als schwacher lineärer Saum, der den Breiten-durchmesser des Bacillus kaum vergrößert, nach Manson oder Giemsa rosa gefärbt. Sodann verbreitert sich dieser Saum unter Zunahme der Färbungsintensität bis zu stattlichen Kapseln, deren Dicke das 2—3-fache der Bacillbreite beträgt. Die individuellen Differenzen werden nun dadurch sichtbar, daß unter wenig zusagenden Bedingungen nur wenige gekapselte Bacillen unter einer Mehrzahl nackter sich finden, oft sogar in der Weise, daß in einer Kette ein Glied oder mehrere sich mit Kapseln umgeben, während der Rest es unterläßt. Umgekehrt findet man unter optimalen Bedingungen unter einer überwiegenden Anzahl gekapselter Individuen vereinzelte, die nackt geblieben sind. Die ausgebildete Kapsel zeigt nach guter Fixation nur selten ganz geradlinigen Kontur, meistens ist derselbe etwas gewellt und auch bizarre Verzerrung derselben kommen beim Ausstreichen wegen ihrer großen Fragilität und Weichheit (Hamm) zu stande. So bekommt man zuweilen feine Querstrichelung der Kapsel zu sehen, die den Eindruck von Einschnürungen macht und wohl auf ungleichmäßige Schrumpfung zurückzuführen ist. Es kommt auch vor, daß beim Ausstreichen die Kapselsubstanz zu einem pinselartigen Besatz ohne deutliche Begrenzung in der Strichrichtung ausgezogen wird. Auf die Weichheit der Kapselsubstanz ist es wohl auch zurückzuführen, daß innerhalb der Kapsel zuweilen die einzelnen Individuen der Kette außer der Reihe geschoben sind, zuweilen in ganz zierlicher Weise das eine nach rechts, das folgende nach links u. s. f. Auch die Nuance der Färbung kann verschieden sein, von hellrosa bis rotviolett bei Mansonschem Methylenblau, von rosa bis schwarzviolett bei Giemsa-Färbung. Auch ich konnte, wenn auch nicht immer, feststellen, daß bei Mansonscher Färbung das Stäbchen selbst nicht den reinblauen Ton der Kulturbacillen, sondern mehr einen blauvioletten

zeigt; vielleicht handelt es sich dabei um eine Supraposition der blauen Farbe des Stäbchens und der Rosatönung der darüberliegenden Kapselschicht. Wie von Bail bezüglich der kapseltragenden Bacillen im Tierkörper bereits festgestellt worden ist, sind auch in Serumkulturen die gekapselten Individuen meist breiter (natürlich die Kapsel abgerechnet), als Kulturbacillen — doch ist das keine absolute Regel — indem zuweilen verdickte Individuen ohne Kapsel und dünne kapselführende beobachtet werden. Was die von Migula und Buerger beschriebene Kapselmembran betrifft, so sieht man wohl öfters eine deutliche Begrenzung der Kapsel als roten Strich resp. eine Ansammlung stärker färbbarer Substanz am Kapselrande, ich glaube jedoch, daß es sich dabei um die auch bei bester Fixation unvermeidliche Schrumpfung und Kondensation der äußeren Kapselschicht handelt, nicht aber um eine wirkliche Differenzierung der Kapsel. Degeneriert der kapseltragende Bacillus, so kann man zweierlei Bilder beobachten: Entweder zerfließt die Kapsel im Medium, so daß nur ein undeutlich begrenzter Rosasaum zurückbleibt, oder aber das Chromatin des Stäbchens wird schwach färbbar oder schwindet ganz, indem die rosafarbene Kapsel zurückbleibt, die dann schollig oder in kürzere Segmente zerfällt, ein Vorgang, der auch im Tierkörper während der Infektion sehr oft stattfindet (Heim). Auch beim Zerfall geben sich individuelle Verschiedenheiten der Resistenz kund, indem in allen Serumkulturen einzelne kapseltragende Individuen lange Zeit persistieren, während die Mehrzahl längst zerfallen ist. Die leeren Kapseln als jüngste Entwicklungsformen zu betrachten, wie Hamm es tut, scheint mir wenigstens für den Milzbrand nicht angängig, da ihr Auftreten hier immer mit Degenerationserscheinungen Hand in Hand geht.

Es mag hier noch bemerkt werden, daß die Kapseln zuweilen sich auch vital (eigentlich postvital) färben lassen (das ist Hamm nach der Methode von Nakanishi nicht gelungen); es wurde das Material mit Lugolscher Lösung und verdünntem Fuchsin zwischen Deckglas und Objektträger untersucht — sie erscheinen dabei meist breiter als in fixierten Präparaten, was dafür spricht, daß bei allen Fixierungsmethoden die empfindlichen Gebilde eine Schrumpfung erfahren. In demselben Sinne spricht die Beobachtung von Hamm, der seinen Kapselbacillus in einer Kollargolaufschwemmung größer fand als in gefärbten Präparaten (bei Osmiumsäurefixation). Diese Feststellung der vitalen Färbung von Kapseln dürfte wohl auch geeignet sein, den Skeptizismus A. Fischers bezüglich der Milzbrandkapsel zu entkräften, wenn es übrigens dessen angesichts der Metachromasie der Kapsel noch bedarf. Wenn man in einem Serumkulturpräparat auf dem blauen Grunde des Serums die scharf umschriebene rosa Kapsel und darin den tiefblauen Bacillus sieht, fällt es nicht leicht, den Gedanken an ein Kunstprodukt aufkommen zu lassen.

Um nun zum eigentlichen Thema, der Physiologie der Kapselbildung überzugehen, will ich bemerken, daß es bei diesen Versuchen nötig erscheint, mit verschiedenen Stämmen zu arbeiten, zumal nach den Erfahrungen von Preisz und Stiennon, denen ich die eigenen anschließen kann, Stämme verschiedener Virulenz eine verschiedene Befähigung zur Kapselbildung aufweisen. Es ist nun angebracht, je nach dem Zweck des Versuchs hoch- oder schwachvirulente, d. h. leicht oder schwer kapselbildende Stämme zu benutzen; handelt es sich also um Feststellung fördernder oder hemmender Einflüsse, so wird zweckmäßig ein schwer

verkapselnder Stamm verwendet, handelt es sich darum, ob unter ungünstigen Umständen Kapselbildung noch überhaupt zustande kommt, ist ein guter Kapselbildner zu bevorzugen. Mir standen im ganzen 56 Milzbrandstämme zur Verfügung, die ich zum Teil der zuvorkommenden Liebenswürdigkeit der Herren Prof. Ascoli, Heim, Nowak, Preisz und Růžicka verdanke, zum Teil der hiesigen Institutssammlung entnommen habe und die eine ganze Stufenleiter von höchster bis zu fehlender Virulenz abgeben. Ganz avirulente degenerierte asporogene Stämme (zwei alte Vaccine sowie ein durch Züchtung bei 42° C degenerierter Stamm), die auch morphologisch die Kennzeichen einer „forma depauperata“ bieten — sehr schlanke Stäbchen ohne Kettenbildung — haben die Kapselbildung unwiderbringlich eingebüßt, bei den anderen erscheint sie mehr oder minder ausgebildet.

An Seris gelangten zur Untersuchung diejenigen vom Menschen, Pferd, Rind, Hund, Katze, Kaninchen und Meerschweinchen. Kultiviert man nun Milzbrandbacillen in Serum, so hängt das Resultat von der Art des Serums sowie von der biologischen Individualität des Stammes ab. Bei Verwendung von schwachvirulenten Stämmen — ich verwendete meist zu diesen Versuchen einen Laboratoriumsstamm, der seit ca. 15 Jahren auf Agar fortgezüchtet wird — sieht man, daß hier die bakteriziden Serumwirkungen von ausschlaggebender Bedeutung sind. In stark wirksamen Seris, z. B. frischem Kaninchenserum, degenerieren zumeist die eingesäten Keime, gelingt es einem Ueberrest, sich zu vermehren, so sind sie trotzdem kapsellos und tragen zum Teil auch Degenerationsstigmata (Hyperchromasie, Knäuelbildungen, frühzeitiger Zerfall). Auch in anderen frischen Seris kommt dieser Stamm (der übrigens noch für Kaninchen virulent ist) schlecht fort und bringt es nur schwer zur Kapselbildung, nur menschliche Ascitesflüssigkeit zeigte sich für ihn als günstiges Medium, indem ohne weiteres Vermehrung eintrat, und $\frac{2}{3}$ — $\frac{3}{4}$ der Stäbchen sich einkapselten. Sät man nun in dasselbe aktive Kaninchenserum einen hochvirulenten Stamm ein, so bleibt ein Teil der Stäbchen am Leben und vermehrt sich zu einer kapseltragenden Generation. Daß tatsächlich die Serumfestigkeit des Stammes auch für sein Kapselbildungsvermögen von Bedeutung ist, konnte an dem eben geschilderten schwachvirulenten Stamm dargetan werden; derselbe wurde durch 6 Kaninchenpassagen in seiner Virulenz erhöht und sodann zugleich mit der nicht passierten Ausgangskultur in großer Menge in Kaninchenserum eingesät:

Versuch. In je 1 ccm 3-tägiges Kaninchenserum unverdünnt resp. auf $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$ mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt, werden die beiden Stämme AZ nicht passiert und AZKr6 passiert, in großer Einsaat eingetragen. Resultat nach 20 Stunden bei 37°.

AZ. Ser. $\frac{1}{1}$ vollständiger Zerfall. — Ser. $\frac{1}{2}$ spärlich entwickelt, darunter spärliche kapseltragende Stäbchen. — Ser. $\frac{1}{4}$ mäßig entwickelt, die Hälfte der Stäbchen mit Kapseln. — Ser. $\frac{1}{8}$ spärlich entwickelt, keine Kapseln.

AZKr6. Ser. $\frac{1}{1}$ gut entwickelt, keine Zerfallserscheinungen, alle Stäbchen bekapselt. — Ser. $\frac{1}{2}$ gut entwickelt, alle Stäbchen bekapselt. — Ser. $\frac{1}{4}$ do. — Ser. $\frac{1}{8}$ mäßig entwickelt, die Hälfte der Stäbchen mit Kapseln.

Der Vergleich beider Reihen zeigt deutlich, daß mit der erlangten größeren Serumfestigkeit auch die Fähigkeit der Kapselbildung gesteigert wurde. Die Empfindlichkeit unseres Stammes (vor der Passage) war so groß, daß selbst das gewöhnlich als bakterizid inaktiv angesprochene Meerschweinchen sich nicht immer ohne weiteres zur Kapselbildung eignete. Dafür, daß bakterizide Wirkungen der Kapselbildung hinderlich sind, spricht auch der vielfach von mir erhobene Befund, daß die Verdünnung bakterizider Sera, die keine Einkapselung zuließen, Kapseln

hervortreten ließ, sofern nur durch zu starke Verdünnung die Ernährung nicht beeinträchtigt wurde. Nun wird ja bekanntlich durch Verdünnung der bakterizide Effekt der Sera herabgesetzt und darauf ist wohl die Begünstigung der Kapselbildung zurückzuführen, trotzdem doch der Nährwert dabei leidet. Es ist diese Versuchsanordnung insofern von Wichtigkeit, als doch gerade verdünntes Serum dem Gewebsplasma entspricht, also dem Medium, in dem im Tierkörper die Kapselbildung vor sich geht.

Es gibt bekanntlich noch einen anderen Weg, die Bakterizidie des Serums auszuschalten — die Hitzeinaktivierung — und tatsächlich gelingt es, dadurch manche Sera zu geeigneten Medien für die Kapselbildung zu machen, die sie sonst nicht zulassen. Verschiedene Serumarten sowie verschiedene Sera derselben Art zeigen bei diesen Versuchen ein recht wechselndes Verhalten, wie auch bei bakteriziden Versuchen von anderen Autoren mehrfach festgestellt wurde. Kaninchen-, Pferde- sowie Menschensera müssen dabei bekanntlich meistens bis auf 63° C eine halbe Stunde lang erhitzt werden. Die Tatsache, daß zuweilen auch das nichtbakterizide Meerschweinchenserum durch Erhitzen zur Kapselprovozierung geeigneter wird (aktives Meerschweinchenserum: Spuren von Kapseln — dasselbe erhitzt 30 Minuten bei 60°; die Hälfte bekapselt — dasselbe erhitzt 30 Minuten bei 60–64°; drei Viertel mit Kapseln), glaube ich dadurch erklären zu müssen, daß für schwachvirulente Stämme natives Eiweiß schwer angreifbar sein dürfte und daß hydrolytische Veränderungen beim Erhitzen diese Angreifbarkeit steigern. Ein auffallendes Resultat ergab ein anderer Versuch; da nach Bail und Petterson Zusatz von Organbrei die Bakterizidie des Serums zum Verschwinden bringt, habe ich versucht, auf diese Weise Kapselbildung in Kaninchen- serum zu erlangen, was mißlang. Ja es zeigte sich, daß Meerschweinchenserum, das an sich Kapselbildung zuließ, nach Zusatz von Organbrei keine gab. Ich muß mich vorläufig der Deutung dieser interessanten Befunde enthalten.

Diese Versuche sprechen nun ganz unzweideutig gegen die teleologische Anschauung, die in der Kapselbildung eine Schutzvorrichtung der Mikroorganismen sehen will; sie lehren, daß dort, wo das Leben und Fortkommen des Bacillus gefährdet ist, auch die Kapselbildung erschwert wird oder unterbleibt, daß dagegen unter günstigen Daseinsbedingungen, wo also der Reiz zur Abwehr eigentlich fehlt, die Einkapselung am prägnantesten zu Tage tritt. Die bereits bebildete Kapsel ist wohl imstande dem Bakterium als Schutzorgan zu dienen, ihre Ausbildung verlangt aber günstige Daseinsbedingungen und bedarf es dazu gar keiner Existenzgefährdung des Bacillus. Ist dem aber so, dann gewinnt die andere Anschauung an Wahrscheinlichkeit, die die Kapselbildung nur als Beantwortung eines von den tierischen Säften ausgehenden Reizes betrachtet und zwar am ehesten wohl eines Nahrungsreizes.

Es erhebt sich nun die Frage, sofern man diesen Standpunkt einnimmt, welcher Serumbestandteil wohl diesen Reiz abgibt. Hier wäre wohl vor allem an 2 Arten von Stoffen zu denken — an die Eiweißstoffe des Serums, die einen charakteristischen Bestandteil bilden, oder aber an die Kohlehydrate. Diese letztere Möglichkeit wird von den bereits früher erörterten Erfahrungen nahegelegt, daß bei vielen Pflanzen sowie bei manchen Bakterienarten erhöhte Kohlehydratzufuhr Hypertrophie der Membran resp. Bildungen von Schleimhüllen anregt. Neben dem Zucker, der in geringer Menge im Serum enthalten ist, kämen vielleicht auch Kohlehydratgruppen des Eiweißmoleküls in Betracht, die bei seinem

Abbau frei werden könnten. Direkte Versuche, mit isolierten Eiweißstoffen die Entscheidung dieser Frage zu erlangen, sind leider bis jetzt erfolglos geblieben. Die Lösungen der durch Ammonsulfat resp. Kochsalz (bei saurer Reaktion) ausgesalzten Eiweißstoffe aus Ascites ergaben wohl Wachstum, aber keine Kapselbildung — vielleicht werden weitere Versuche in dieser Richtung doch noch die Entscheidung bringen.

Ich habe sodann auf indirektem Wege versucht, über den zur Kapselbildung nötigen Stoff Aufschluß zu erlangen, indem ich das Serum höheren Temperaturen aussetzte oder auf anderem Wege seinen Abbau herbeiführte. Es zeigte sich nun, daß die Erhitzung der Sera bis an ihre Koagulationsgrenze die Fähigkeit der Kapselprovozierung wohl herabsetzt, speziell wenn sie mit schwachvirulenten Stämmen geprüft wird, daß sie aber dadurch durchaus nicht zum Verschwinden gebracht wird. Folgender Versuch mag das illustrieren:

Versuch. Menschliche Ascitesflüssigkeit. Stamm AZ.

Asc. unerhitzt: $\frac{3}{4}$ der Stäbchen gut bekapselt.

Asc. 30 Minuten auf 70° erhitzt, schwach opaleszierend: $\frac{3}{4}$ der Stäbchen mit sehr schönen Kapseln.

Asc. 30 Min. auf 80° erhitzt, stark opaleszierend	} schwache Entwicklung, spärliche Kapseln
Asc. 30 Min. auf 90° erhitzt, sehr stark opaleszierend	
Asc. 30 Min. auf 100° erhitzt, sehr stark opaleszierend	

Eine andere Ascitesflüssigkeit, weniger hitzeempfindlich, zeigte nur geringe Herabsetzung:

Versuch. Asc. unerhitzt: $\frac{3}{4}$ der Stäbchen bekapselt.

Asc. 30 Min. auf 80° erhitzt: Die Hälfte mit Kapseln.

Asc. 30 Min. auf 98° erhitzt, schwach opaleszierend: Die Hälfte mit Kapseln.

Werden tierische Sera (Pferde-, Rindersera) schief koaguliert und die Fläche beimpft, so erhält man zahlreiche bekapselte Stäbchen, zuweilen besteht der ganze Rasen fast nur aus solchen, sofern nur die Koagulationstemperatur nicht zu hoch war (für Pferdeserum 70—75° C, für Rinderserum 70—80° C). Am besten eignet sich dazu transparent oder noch durchscheinend koaguliertes Serum — bei hohen Temperaturen erstarrtes Serum liefert nur wenige oder gar keine Kapseln. Es ist bei diesen Versuchen zu beachten, daß der freie Sauerstoffzutritt auf der erstarrten Serumfläche wahrscheinlich als günstiges Moment zum Teil der Herabsetzung der Kapselprovozierungsfähigkeit durch Zustandsveränderung des Serums entgegenwirkt.

Von chemischen Umwandlungen versuchte ich zunächst Säure- und Alkalieinwirkung; ich ließ 1-proz. HCl resp. NaOH eine Stunde lang bei Zimmertemperatur auf Ascitesflüssigkeit einwirken, stellte dann die ursprüngliche Reaktion wieder her. Während die unveränderte Ascitesflüssigkeit sehr gute Kapselbildung gab, war sie im erhaltenen Acidalbumin resp. Alkalialbuminat bedeutend schwächer. Viel stärker wirkten peptische und tryptische Verdauung. Bereits nach 24-stündiger Einwirkung von Pepsin resp. Trypsin (Mercksche Präparate 1-prom.), bei 37° war die Kapselbildungsfähigkeit verschwunden — nach 7-tägiger Verdauung war fast kein koagulables Eiweiß mehr vorhanden, Kapseln wurden nicht gebildet und es trat noch eine neue interessante Eigenschaft auf. Wurde die verdaute Flüssigkeit zu unverdaulichem Ascites zugesetzt, so würde die Kapselbildung gehemmt, wie folgender Versuch zeigt.

Versuch. Stamm AZ. Bebrütung 18 Stunden bei 37°.

I. Peptisch verdaute Flüss. + Asc. unverdaut ää, sehr selten kapseltragende Stäbchen.

Pept. verd. Flüss. 3 Tle + Asc. unverdaut 1 T., keine Kapseln.

Pept. verd. Flüss. 7 Tle + Asc. unverdaut 1 T., keine Kapseln.

II. Tryptisch verd. Flüss. + Asc. unverdaut ää, keine Kapseln.

Trypt. verd. Flüss. 3 Tle + Asc. unverdaut 1 T., keine Kapseln.

Trypt. verd. Flüss. 7 Tle + Asc. unverdaut 1 T., keine Kapseln.

III. Physiologische NaCl-Lösung + Asc. unverdaut ää, fast alle Stäbchen gut bekapselt.

Physiol. NaCl-Lösung 3 Tle + Asc. unverdaut 1 T., fast alle Stäbchen gut bekapselt.

Physiol. NaCl-Lösung 7 Tle + Asc. unverdaut 1 T., $\frac{1}{2}$ der Stäbchen mit Kapseln.

Eine sichere Erklärung dieses merkwürdigen Verhaltens ist zur Zeit noch nicht zu geben.

Wenn man annimmt, daß das native Eiweiß der kapselprovozierende Faktor des Serums ist, ferner, daß dieses native Eiweiß für die Bacillen schwer angreifbar ist, so wäre es verständlich, daß, wenn ihnen neben nativem auch das leichter assimilierbare gespaltene Eiweiß geboten wird, sie das letztere vorziehen und jenes unangetastet lassen, wodurch auch die Kapselbildung unterbleibt. Andere Tatsachen, die ebenfalls in dem Sinne sprechen, werden weiter unten mitgeteilt. Bei Papayotinverdauung von Ascitesflüssigkeit bei saurer Reaktion mit 80° C nach Delezenne, Mouton und Pzerski, wurde auch eine Flüssigkeit erhalten, die zwar üppiges Wachstum, aber keine Kapselbildung zuließ; diese besaß jedoch keine hemmenden Eigenschaften, wie die oben beschriebenen. — Von der bekannten Tatsache ausgehend, daß Zusatz von Nährstoffen die Bakterizidie der Sera herabgesetzt resp. zum Verschwinden bringt, habe ich versucht, auf diese Weise Kapselbildung in Seris zu erzielen, die durch ihre Bakterizidie sonst eine solche nicht zuließen. Wider Erwarten zeigte es sich nun, daß Zusätze von verschiedenen eiweißhaltigen Nährstoffen (Pepton Witte und Merck, Somatose, Nutrose, Nährstoff Heyden) nicht nur die erwünschte Wirkung nicht hatten, sondern daß sie zu gut kapselbildenden Seris zugesetzt, diese Eigenschaft beeinträchtigten resp. aufhoben. Es wurde natürlich immer die leicht saure Reaktion entsprechend korrigiert, um von dieser Seite her schädliche Wirkungen zu vermeiden. 1-proz. Zusätze zeigten sich meist schwach wirksam, 2-proz. stärker, 5-proz. ließen nie Kapselbildung zu, wenngleich von einer Entwicklungshemmung angesichts des üppigen Wachstums keine Rede sein konnte. Zusätze von 5—10-proz. Traubenzucker, 5-proz. Glycerin, 2-proz. oder 5-proz. Amylum solubile (Merck) hatten keine derartige Wirkung, die also nur eiweißhaltigen Nährstoffen eigen zu sein scheint, trotzdem doch auch die Kohlehydrate eine Verbesserung des Nährwertes bedeuten. Hierher gehört auch die öfters beobachtete Hemmung der Kapselbildung bei Verdünnung von Serum oder Ascites mit Bouillon, während dieselbe Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung ihr nicht hinderlich ist. Ebenso hemmt meistens Zusatz von sterilisierter Milch sowie von Pferde-, Kaninchenfleisch- und Rinderlungenextrakten, von Natr. nucleicum (2-proz.). Diese Befunde sprechen zweifellos dafür, daß die Ernährungsweise für die Kapselbildung eine höchst wichtige Bedeutung hat, daß also höchstwahrscheinlich diese letztere als Produkt eines eigenartigen Stoffwechsels des Bakteriums zu betrachten ist. Die oben anlässlich der Verdauungsprodukte gegebene hypothetische Erklärung, wonach bei Gegenwart von anderem besser aufgeschlossenen Nahrungseiweiß natives Eiweiß verschmätzt wird, dürfte auch hier sich als anwendbar erweisen.

Sodann wurde die Einwirkung einer Reihe von Agentien untersucht, die zumeist wachstumshemmend wirken. Salzsäurezusatz bis zu neutraler Reaktion hebt bereits die Kapselbildung auf, Laugenzusatz wird besser

vertragen doch tritt auch hier bei stark alkalischer Reaktion ($\frac{1}{10}$ N) vollständige Hemmung ein. Neutralsalze fördern in schwacher (1-proz.) Konzentration, hemmen meist in stärkerer (NaCl , K_2SO_4 , MgSO_4). Ammoniumsalze wirken meist schon in geringen Konzentrationen hemmend (Sulfat, Chlorid, Oxalat, Phosphat), ebenso Kaliumbichromat und Calciumchlorid. Von organischen Stoffen hemmen Tyrosin, Asparagin, Harnstoff, Phenole, Alkohole und zwar selbst in Verdünnungen, die noch Wachstum zulassen. Eosin (gelblich-Grübler) hemmt bereits bei 0,1 Proz., während bei 1 Proz. Wachstumshemmung eintritt; bemerkenswert ist, daß bei 0,1 Proz. auch die Sporenbildung des Milzbrandbacillus gehemmt wird (Noguchi). Auch Pyozyanase (Lingner), die bekanntlich auf den Milzbrand bakterizid wirkt, hemmt die Kapselbildung noch in solchen Verdünnungen, die Wachstum zulassen ($\frac{1}{20}$ und $\frac{1}{10}$, Wachstumshemmung bei $\frac{1}{5}$). Als allgemeines Resultat aus diesen Versuchen ergibt sich, daß alle Faktoren, die dem Wachstum hinderlich sind, auch die Kapselbildung trotz Anwesenheit entsprechender Serummenge herabsetzen oder aufheben.

Um den Einfluß antagonistischer Wachstumshemmung zu prüfen, wurden in Ascitesflüssigkeit Mischkulturen von Milzbrandbacillen mit *V. cholerae* Omsk., *B. coli* (aus einer Cystopyelitis), *Coryneb. diphtheriae*, *B. fluorescens*, *Bac. vulgatus*, *Bact. vulgare* (aus einer Cystopyelitis), *Bact. pyocyaneum* St. Z. u. Exs. angelegt. Nur in den Mischkulturen mit *B. coli* zeigte sich Wachstumshemmung und die spärlichen gewachsenen Keime waren nackt — die anderen Kulturen zeigten gute Entwicklung der Bacillen mit schön ausgebildeten Kapseln.

Man mußte sich weiter folgerichtig die Frage vorlegen, ob das Blutserum resp. seine Konstituentien die einzigen Faktoren sind, die Kapselbildung anzuregen imstande sind oder ob sich nicht noch andere Bedingungen dafür ausfindig machen ließen, die dann für die ganze Auffassung der Frage natürlich von großer Bedeutung wären. In erster Linie kam Hämoglobin in Betracht — ein Eiweißkörper von besonderem Typus — der konstant in jedem Blut sich findet; eine alkalische Hb-Lösung (Präparat von Merck-Lösung nach der Vorschrift von Heim) gab in physiologischer NaCl-Lösung resp. Bouillon wohl gutes Wachstum aber keine Kapselbildung, zu Ascitesflüssigkeit zugesetzt erwies sie sich ohne Einfluß auf die Kapselbildung. Ebenso wenig gelang es bei dem schon mehrfach erwähnten schwachvirulenten Stamm Z., der auf gewöhnlichem Agar keine Kapseln bildet, durch Zusatz von 10 Proz. alkalischer Hb-Lösung im Verhältnis 1:8 Agar Kapselbildung zu erreichen. Auch in sterilisierter Kuhmilch konnte keine erzielt werden.

Sehr wichtig ist die hieran sich schließende Frage nach dem Vorkommen von Kapseln auf den gebräuchlichen künstlichen Nährböden. Diese Frage hat in der Literatur recht widersprechende Beantwortungen gefunden: Serafini, Klett, Binaghi, Stiennon, Hamm verneinen sie apodiktisch, Johnne meint, Kapseln kämen auf künstlichen Nährböden „nur ganz vereinzelt und nur in ganz jungen höchstens 24 Stunden alten Kulturen“ vor, Haase hat sie vereinzelt in Gelatinekulturen beobachtet, Podwyssotzky und Taranuchin auf Hirnagar (Züchtung bei 42° bis 43°), Pianese auf Glycerinagar. Buerger fand sie in bis 48 Stunden alten Agarkulturen, dagegen nicht auf Zuckeragar. Besondere Beachtung verdienen die diesbezüglichen Angaben von Preisz; dieser meint vollvirulente Stämme sowie ganz avirulente bilden auf Agar keine Kapseln, abgeschwächte Stämme seien dagegen durch reichliche Kapselbildung auf

Agar gekennzeichnet. Endlich sei noch die Ansicht von Boni, Kern sowie Hinterberger erwähnt, die die Kapsel als normalen Bestandteil des Bacillus betrachten und ihre Existenz mittelst besonderer Färbemethoden nachzuweisen versuchen. Meiner Ansicht nach liegt hier ein Mißverständnis vor, indem diese Autoren die Membran, die tatsächlich jeder Bakterienzelle eigen ist, als Kapsel deuten, während wir als Kapsel nur besondere Differenzierungen dieser Membran ansprechen. (Bei der Methode von Boni handelt es sich wahrscheinlich nur um Artefakte [Hamm.] Näheres darüber in der folgenden 2. Mitt.)

Angesichts der Bedeutung, die die Kapselbildung auf künstlichen Nährböden beanspruchen darf, habe ich es mir anlegen sein lassen, sämtliche Stämme, die ich erlangen konnte, daraufhin zu untersuchen. Unter 56 Stämmen fand ich 38 solche, die auf gewöhnlichem 1—2-proz. Peptonagar Kapseln in verschiedener Anzahl bilden. Ein „massenhaftes“ Vorkommen von Kapseln, wie Preisz es erwähnt, habe ich wohl nie gefunden, im besten Falle sah ich ein bekapseltes Individuum unter 30—50 vorkommen, oft mußte ich mehrere Hundert bis mehrere Tausend absuchen, bis ich ein bekapseltes Stäbchen fand, zuweilen sogar nur ein Exemplar im ganzen Präparat. Die betreffenden Präparate wurden mit Rinderserum hergestellt, in der Hammischen Fixationsröhre fixiert und mit stark verdünnter Giemsa-Lösung gefärbt. Auch hier sieht man, ebenso wie in Serumkulturen, individuelle Differenzen hervortreten, indem an einer Kette nur etwa ein oder einige Individuen sich umkapselt haben, während der Rest nackt geblieben ist. Ebenso kann man öfters beobachten, daß z. B. an einem Faden in der Mitte die Kapselbildung anfängt, indem die ersten Stäbchen nur einen schwachen rosa Saum aufweisen, der bei den nächsten dicker wird und sich deutlich rot färbt, bei den noch weiteren wird er breit und färbt sich violett und das Ende des Fadens bildet eine dicke schwarzviolette Keule (etwa einem Aktinomyces-Kolben ähnlich). Die beobachteten Kapseln geben in der Mehrzahl der Fälle denjenigen, die man im Tierkörper oder in Serumkulturen beobachtet in Nichts nach. Bezüglich des Zusammenhanges mit der Virulenz kann man im allgemeinen sagen, daß ein Parallelismus beider Funktionen besteht, wenn er sich auch nicht ganz exakt durchführen läßt, da man auch bei Vaccins Kapseln, wenn auch meist spärliche, feststellen kann — jedenfalls habe ich bei vollkommen avirulenten Stämmen in Uebereinstimmung mit Preisz keine gefunden. Auch besteht im großen und ganzen eine Uebereinstimmung zwischen der Promptheit und Ausgiebigkeit der Kapselbildung in Serum- und Agarkulturen. Dagegen kann ich nach meinem Material die Beobachtung von Preisz nicht bestätigen, wonach vollvirulente Stämme auf Agar keine Kapseln bilden sollen, indem ich im Gegenteil bei ihnen die beste Kapselbildung feststellen konnte. Es sei hier auch ein Versuch angeführt, den ich angestellt habe, um den Zusammenhang zwischen Virulenz und Kapselbildungsvermögen festzustellen: Den schon mehrfach erwähnten abgeschwächten Stamm Z, der auf Agar keine Kapseln bildet, habe ich durch 10 Kaninchen hintereinander geschickt, um seine Virulenz zu erhöhen. Der pasierte Stamm hatte nun, wie bereits erwähnt, die Fähigkeit erworben, in frischem Kaninchenserum sich zu entwickeln und Kapseln zu bilden (eine Fähigkeit, die dem Originalstamm abging), doch kam es auf Agar doch nur höchstens zur Bildung ganz einzelner Kapseln. Sehr interessant ist ferner die Tatsache, daß Trauben- und Invertzucker sowie Glyzerin, die in flüssigen Serumkulturen die Kapselbildung nicht merk-

lich schädigen, bei 5—10-proz Zusatz zu schiefem Agar sie aufheben oder verzögern, trotzdem das Wachstum durch diese Zusätze eher begünstigt wird. Diese Eigentümlichkeit vermehrt somit die Reihe anderer morphochemischer Merkmale, die diesen Nährstoffen eigen ist, also herabgesetztes Sporenbildungsvermögen und erhöhte Neigung zur Bildung von sogenannten „sporoiden Körpern“ oder wie ich sie zu benennen vorschlage, „jodophilen Körnern“ (Ruzicka, Verf.). Daß die beeinträchtigende Wirkung auf Agar hervortritt, nicht dagegen in Blutserum, ist wohl darauf zurückzuführen, daß im Serum gegenüber den sehr günstigen Bedingungen für Kapselbildung der Hemmungseffekt nicht aufkommt, daß dagegen auf Agar, wo Kapseln nur von Ausnahmsindividuen sozusagen mit Mühe gebildet werden, seine Wirkung sie leicht unterdrückt.

Ich habe sodann auch andere Nährböden nach dieser Richtung hin untersucht. Gute Kapselbildung habe ich in Anlehnung an die Befunde von Podwysotsky und Taranuchin auf einem Hirnagar festgestellt, den ich aber zum Unterschied von jenen Autoren ohne Pepton hergestellt habe, so daß der Gehirnbrei die Eiweißnährquelle abgab¹⁾. In Milch, gewöhnlicher Bouillon, Gelatine (bei 20° C und bei 37° C) habe ich keine oder fast keine Kapselbildung gefunden, wohl infolge der relativen Anaërobie, die wahrscheinlich ebenso wie alle anderen oben besprochenen ungünstigen Lebensbedingungen der Kapselbildung unzuträglich ist. Endlich habe ich sehr geringe Kapselbildung auf Kartoffeln beobachtet, die jedoch hinter der auf Agar sehr zurücksteht und nur bei einer geringen Anzahl von Stämmen vorkommt (von 29 Stämmen, die auf Agar Kapseln bilden, tun es nur 10 auf Kartoffeln).

Aus diesen Befunden, die zum Teil eine Bestätigung, zum Teil eine Erweiterung von älteren Beobachtungen sind, ergeben sich nun wichtige Schlußfolgerungen über das Wesen der Kapselbildung. Es ist zunächst einleuchtend, daß von einer zielstrebigem Abwehrreaktion auf einem gut zusagenden Nährboden keine Rede sein kann — außer daß man sich zu der unwahrscheinlichen Annahme verstiege, daß auch ohne die Notwendigkeit einer Abwehr die Bacillen vorsorgend eine Kapsel bilden. Es ist wohl am naheliegendsten, hier einen morphochemischen Ausdruck bestimmter Stoffwechselvorgänge anzunehmen, ebenso wie bei der Sporenbildung, zumal wenn man die oben eingehend besprochenen Versuche im Auge behält, die alle auf eine weitgehende Beeinflussung der Kapselbildung durch Ernährungsvorgänge hinweisen. Akzeptiert man diese Ansicht und glaubt man im Serumeiweiß den Faktor suchen zu müssen, der die Kapselbildung in Serumkulturen und im Tierkörper anregt, so muß man angesichts der Kapselbildung auf Agar und Kartoffeln annehmen, daß zuweilen auch verändertes tierisches Eiweiß (Fibrinpeptone und Albumosen), ja selbst Pflanzeneiweiß als Reiz oder Material zur Kapselbildung genügen kann. Man könnte daran denken, daß der an seine parasitische Lebensweise angepaßte Milzbrandbacillus auch außerhalb des Organismus nach Möglichkeit eine bestimmte Stoffwechselrichtung beibehält, als deren Resultante die Kapselbildung erscheint. Man muß sich sodann die Frage vorlegen, welche Rolle eventuell im Infektionsprozeß derartige schon außerhalb des Tierkörpers bekapselte Individuen spielen; bekanntlich geht bei der Infektion mit Kulturmilzbrand ein großer Teil der Individuen verloren und nur ein Bruchteil davon

1) Bei längerem Wachstum zeigten manche Stämme auf diesem Nährboden eine eigentümliche rötliche Verfärbung der oberflächlichen Nährbodenschicht.

gelangt zur Kapselbildung und Vermehrung. Es wäre nur möglich und sogar wahrscheinlich, daß es gerade diese sind, die schon mit Kapseln bewaffnet in den zu infizierenden Organismus hereingelangen. Man darf aber auch nicht vergessen, daß auch Stämme, denen das Kapselbildungsvermögen auf künstlichen Nährböden abgeht, eine, wenn auch abgeschwächte Virulenz aufweisen und unter günstigen Umständen in Serumkulturen sowohl als im Tierkörper sich umkapseln.

Für die soeben dargelegte Anschauung, wonach die Kapselbildung keine Abwehrreaktion, sondern die Beantwortung eines Nahrungsreizes ist, sprechen noch andere Beobachtungen, die man an tierischem Material erheben kann. Bei Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen, die mit verschiedenem Milzbrandmaterial geimpft wurden, sieht man ziemlich oft neben typisch bekapselten Stäbchen resp. Fäden auch nackte in mehr oder minder großer Anzahl. Je nach den Bedingungen, unter denen man dieses Vorkommnis beobachtet, muß man hier zweierlei Vorgänge unterscheiden. Einerseits beobachtet man es dort, wo augenscheinlich bakterizide Wirkungen an Bakterien stattgefunden haben, vereint mit sonstigen Degenerationerscheinungen an den Bakterien, andererseits aber unter Umständen, wo augenscheinlich starke Vermehrung der Bakterien vor sich gegangen ist (Näheres darüber im II. Teil). Die erste Tatsache entspricht den bereits ausführlich besprochenen Beobachtungen, die zur Genüge beweisen, daß bakterizide oder sonstige für das Wachstum schädliche Einflüsse die Kapselbildung hemmen. Die zweite Tatsache habe ich besonders an der Infektionspforte beobachtet (zumal bei Infektion mit größeren Bakterienmengen), dort also, wo die Bakterien am längsten sich haben vermehren können oder aber in jenen Organen, wo die Vermehrung im Tierkörper am üppigsten vor sich geht, also in Lunge, Milz und Leber. Hier liegt es nun nahe, anzunehmen, daß bei üppigem Wachstum in einem begrenzten Bezirk der zur Kapselbildung nötige Stoff aufgebraucht wird, resp. daß seine Regeneration durch den Organismus seinem Verbrauch durch die Bakterien nicht gleichen Schritt hält. Damit stimmte weiter die Beobachtung, daß im Blut derselben Tiere meistens die Kapseln gut entwickelt sind, da bekanntlich hier die Bacillen am spätesten sich festsetzen und das in Fülle vorhandene Material nicht so leicht aufbrauchen können. Einen derartigen Aufbrauch einer für Kapselbildung nötigen Substanz nimmt auch Stiennon an und erklärt damit das Auftreten kapselloser Stäbchen in älteren Serumkulturen sowie im Tierkörper.

Endlich habe ich durch eine Reihe von Versuchen die Eigenschaften der bereits gebildeten Kapseln näher kennen lernen wollen, um daraus eventuell Rückschlüsse auf ihre Zusammensetzung ziehen zu können. Es wurde schon oben erwähnt, daß bei Hitze-fixation von Kapselpräparaten die Kapsel eine mehr oder weniger deutliche Schrumpfung erfährt. Man kann diese Erscheinung genauer beobachten, wenn man Serum- oder Asciteskulturen eine bestimmte zeitlang auf verschiedene Temperaturgrade erhitzt. Bei halbstündigem Erhitzen auf 60° C zeigten sich die Stäbchen schwach färbbar, die Kapseln unverändert, bei 30 Minuten langem Einwirken von 65° C war die Mehrzahl der Kapseln bereits etwas geschrumpft, bei 70° C (30 Minuten) war die Schrumpfung sehr deutlich, bei 20 Minuten langem Erhitzen auf 75° C war die Ascitesflüssigkeit leicht geronnen, die Kapseln zum Teil gut erhalten, zum Teil etwas geschrumpft. Bei Gerinnung der Kultur ist meist die Schädigung der Kapseln geringer, als bei unmittelbar niedrigeren Temperaturen; es scheinen die vom Ge-

rinnselfestgelegten Stäbchen der Hitzewirkung weniger zugänglich oder ihr gegenüber weniger empfindlich zu sein. Bei diesen hohen Temperaturen beobachtet man noch eine Veränderung an der Kapsel, daß sie sich nämlich mit Mansonscher Methylenblaulösung nicht rosa, sondern in einem Orangetone färbt, also eine Art doppelter Metachromasie.

Läßt man auf ein Präparat von einer Serumkultur $\frac{1}{5}$ -N.-HCl 5 Minuten lang einwirken, erleiden die Kapseln keine Alteration, dagegen werden sie in derselben Zeit von N.-KOH teilweise aufgelöst. Dasselbe wurde bei Einwirkung von 30-proz. Natronlauge auf eine Asciteskultur mit schönen Kapseln beobachtet; nach $\frac{1}{4}$ -stündiger Einwirkung war die Mehrzahl der Kapseln schlecht färbbar und umgrenzt von verschwommenen Konturen, nach $1\frac{1}{2}$ Stunden waren die Kapseln fast ganz aufgelöst, nach $7\frac{1}{2}$ Stunden bei Zimmertemperatur waren von den Fäden nur mehr kaum gefärbte Schatten übrig geblieben. Wirkt die Lauge bei höherer Temperatur ein, so ist ihre Wirkung intensiver; bei 1-stündiger Erhitzung auf 60° waren die Kapseln in 0,25-proz. NaOH noch erhalten, ebenso aber geschrumpft in 0,5-proz. NaOH, dagegen waren die Kapseln aufgelöst in 1-proz. und 2-proz. NaOH, die Stäbchen dabei stark geschrumpft, in 4-proz. NaOH waren sowohl Kapseln als auch Stäbchen verschwunden. Ueber die Eigenschaften solcher Lösungen von Milzbrandkapseln, die nach Preisz Kulturbacillen vor der Bakterizidie des Pferde- und Kaninchenserums schützen, soll noch bei späterer Gelegenheit eingehender berichtet werden.

Endlich möchte ich noch einige kurze Bemerkungen anschließen, betreffend das Verhältnis zwischen Sporen- und Kapselbildung. Bekanntlich tritt im Organismus keine Sporenbildung ein, während Kapseln gerade das Merkmal der „tierischen“ Bazillen sind, dagegen werden nach landläufiger Ansicht auf künstlichem Nährboden wohl Sporen, aber keine Kapseln gebildet. Man könnte nun meinen, es bestünde eine Art Antagonismus zwischen beiden Differenzierungstendenzen des Stäbchens, indem eine die andere ausschließen würde. In seinen schönen Untersuchungen hat Heim bereits die Möglichkeit erwogen (p. 58), verneint jedoch das Bestehen eines derartigen Antagonismus, indem er das Entstehen von Sporen in kapseltragenden Stäbchen (in tierischen Organen post mortem) schildert. Dazu möchte ich nun folgendes bemerken: Das Ausbleiben der Sporenbildung im tierischen Körper ist auf 2 Faktoren zurückzuführen — erstens auf die Anaërobiose, zweitens auf den hemmenden Einfluß der tierischen Säfte auf die Sporenbildung. Dieser letztere ist in Serumkulturen ganz deutlich — auch auf Serumagar kommt er zur Geltung, indem die Versporung sich verzögert oder ganz ausbleibt. Doch kann man auch in solchen Kulturen bekapselte Sporangien zu Gesicht bekommen und auf schrägem Agar, wo beide hemmenden Einflüsse wegfallen, sieht man dergleichen in großer Menge. Es gibt also Bedingungen, unter denen beide Differenzierungstendenzen zur Geltung kommen — natürlich nacheinander. Andererseits kommen auf Glyzerin- resp. Zuckeragar (5–10-proz.) Sporen und Kapseln schlecht zur Entwicklung, trotzdem das Wachstum sehr üppig ist.

Nach alledem glaube ich in Uebereinstimmung mit Heim, daß ein Antagonismus beider Entwicklungsrichtungen nicht besteht, daß vielmehr beide von besonderen Ernährungsbedingungen bestimmt werden, die wohl nicht identisch sind, aber einander auch nicht ausschließen.

Krakau, April 1908.

Literatur.

- Ascoli, A., Diese Zeitschr. Bd. XLVI. p. 178—188.
 Bail, O., Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 43.
 Binaghi, R., Centrabl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. IV. 1898. S. 897—898.
 Boni, Diese Zeitschr. Bd. XXVIII. p. 705.
 Buerger, L., Diese Zeitschr. Bd. XXXIX. p. 216—224. 335—252.
 Delezenne C., Mouton, H., Pozerski, E., C. R. Ac. des Sc. Bd. CLXI. p. 177.
 —, C. R. Soc. de Biol. Bd. LX. p. 68—70. 309—312.
 Deutsch-Feistmantel, Impfstoffe und Sera. 1904.
 Eisenberg, Ph., Diese Zeitschr. Bd. XLV. 148—149. 642—645.
 Epstein, zitiert bei Hamm.
 Fischer, A., Vorlesungen über Bakterien. II. Aufl. 1903. p. 12—14.
 Gruber u. Futaki, Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 6.
 Haase, Zitiert in Günthers Einführung. 3. Aufl. p. 310 sowie Baumgartens Jahresb. Bd. X. p. 133.
 Hamm, A., Diese Zeitschr. XLIII. p. 287—303.
 Heim, L., Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 10.
 —, Arch. f. Hyg. Bd. XL. p. 53—62.
 Hinterberger, A., Diese Zeitschr. Bd. XXX. p. 417.
 Hiss, Th., Zitiert bei Hamm.
 Johne, Baumgartens Jahresb. Bd. X. p. 132.
 Kern, F., Diese Zeitschr. Bd. XX.
 Klett, Ibid. p. 128.
 Löhlein, Diese Zeitschr. Refer. Bd. XXXVIII. Beiheft.
 Metschnikoff, E., Virch. Arch. 1884.
 Migula, System der Bakterien. Bd. I. p. 57—59.
 Pianese, Baumgartens Jahresb. Bd. VIII. p. 114—115.
 Powyssozky u. Taranuchin, Baumgartens Jahresb. Bd. XIV. p. 159.
 Preisz, H., Diese Zeitschr. Bd. XLIV. p. 209—210.
 Savtchenko, Ann. de l'Inst. Past. Bd. XI. 1897. p. 868.
 Serafini, Baumgartens Jahresb. Bd. IV. p. 102.
 Stiennon, A., C. R. Soc. de Biol. Bd. LXII. p. 604—605. 646—647. 821—823.

*Nachdruck verboten.***Zur B. pyocyaneus-Infektion im kindlichen Alter.**

[Aus dem Kaiser- und Kaiserin-Friedrich-Kinderkrankenhaus in Berlin.]

Von Adolf Baginsky.

Im Jahre 1897 brachte ich, gelegentlich einer Abhandlung zur Pathologie der Durchfallskrankheiten des kindlichen Alters¹⁾ eine Mitteilung über die höchst gefährlichen Eigenschaften des *B. pyocyaneus* für das Säuglingsalter, seine pathogene Natur in der Erzeugung rasch tödlich verlaufender Darmerkrankung und die intensive Fähigkeit zur Propagation auf der Säuglingsabteilung. Es handelte sich damals um das Vorkommnis, daß in kurzer Frist nacheinander in derselben Baracke 3 Kinder an foudroyant auftretender follikulärer Enteritis erkrankten, die rasch tödlich verlief.

Der erste Fall betraf ein 6 Monate altes Kind, welches mit einigen Furunkeln an der Haut erkrankt, plötzlich schleimige Diarrhöen, alsbald blutigschleimige bekam, mit starkem Tenesmus und Kollapssymptomen. Unter hohen Temperaturen und Kollaps starb das Kind sehr bald. — Die Sektion ergab eine Colitis follicularis mit erheblicher Follikelschwellung und Infiltration der gesamten Darmwand. Schon in vivo wurde aus

1) Archiv für Kinderheilkunde. Bd. XXII. p. 220.

... in seinem Wesen munterer wird und auch anfängt, ... Aussehen des Harns bessert sich und der ... Am 4. Dez. konnte ein eiterfreier Harn ... der Schulter wie am Kreuzbein sind ver- ... Am 19. Dez. konnte das Kind mit ... Während der ganzen so seltsamen ... sowohl aus dem mittelst ... Harn, wie auch aus dem Stuhlgang ... bekannten typischen Eigenschaften zu ... und locheisenartige Hautnekrosen ... Pyocyaneus bezogen werden können. ... Hautverlesung damals unterblieben.

... Widerstandsfähigkeit des so jungen ... Allgemeininfektion mit Pyocya- ... der Krankheitsfall doch, daß die ... den deletären Verlauf zu ... der Beobachtung ge- ... Augenscheinlich sind Virulenz- ... in dem ungleich schweren Verlaufe be-

... am 5. Sept. mit spritzender Diarrhœe und ...

... sehr schwerkranken Eindruck. Unter der ... Senfbädern, Kochsalz- ... eben nur erhalten, und die ... Vom 15. Sept. ab traten an Zahl zwar ... blutig-schleimige Stühle auf, ... ist B. pyocyaneus kulturell ... Darm ausspülungen, ... wird das Kind hergestellt; am 20. Okt. ge-

... B. pyocyaneus dieselbe Form ... Diarrhöen, wie die ersten ... Fälle.

... verstand beschriebene, indes mit weit ... Pyocyaneus-Sepsis. Ein ... im Krankenhause wegen Diarrhöen ... Diarrhöen gelitten, jetzt auch ... Hustenanfälle, indes nicht von dem Cha- ... entwickelt und augenscheinlich herunter- ... 37°C. Dünnschleimige, nicht blutige Stühle, ... Kochsalzinfusionen und geeigneter sonstiger ... keine Kalomelgaben, Bismuth) und Diät. ... auch Eiter im Stuhlgang auf, und ... Prüfung erweist Pyocyaneus im ... Verfall am 16. Sept. Das sofort nach ... Pyocyaneus. — Die Sektion ergibt ... Plaques, insbesondere dicht ... die Dickdarm-Schleimhaut rau und ... Die Nieren zeigen keine sehr wesentlichen ... in der Leber erscheint getrübt und in den Lungen

... Pyocyaneus-Gehalt des Blutes, ... nach dem Tode aus dem frisch ent- ... schon in vivo vorhanden war und ... des Falles durch die allgemeine In- ... beteiligt ist. Auffällig ist auch in ... anderen Fällen, der fieberfreie Verlauf ... Temperaturen. Fast scheint dies, sofern ... wie Otitiden, Pneumonie etc. zu Tempe-

ratursteigerungen führen, zur Charakteristik der *Pyocyaneus*-Infektionen zu gehören.

1907. Das 1 Jahr alte Kind, Irma Mau, wird am 23. Januar mit Otitis media und hochfieberig (Temperatur bis 40°C .) aufgenommen; zu der Ohreiterung war eine diffuse Bronchitis gesellt. Die Verdauung erscheint normal. So der Verlauf unter hohen steilen Fieberbewegungen bis zum 9. Febr., wo die Erscheinungen einer Cystitis sich durch den trüben, eierhaltigen Harn kund gaben. Aus dem steril entnommenen Harn wird *B. coli* gezüchtet. Das Kind verfällt sichtlich. Körperabnahme von 5820 bis 5470 g. Es treten überdies laryngospastische Attacken auf, welche immerhin dazu zwingen, mit der Vollmilchdiät vorsichtiger umzugehen und dieselbe zeitweilig gegen Kindermehlabkochungen auszutauschen.

Am 17. Febr. treten Furunkel über der linken Scapula und auf dem linken Nates auf, die inziidiert einen mißfarbigen nekrotischen Eiter entlassen. An einer nicht inziidierten Stelle am Oberschenkel tritt weiterhin eine von einer erysipelatösen Röte umgebene Infiltrationsstelle auf; tatsächlich verbreitet sich in den nächsten Tagen ein Erysipel über den Oberschenkel hinauf, während die Temperaturen äußerst schwankend sind, von Kollapstemperaturen $35,1^{\circ}$ bis zu $40,4^{\circ}\text{C}$, zumeist zwischen 38° und 40°C wechseln. In den nächsten Tagen verschwindet unter Ichthyolsalbenverbänden das Erysipel; dagegen verbreiten sich Furunkel mehrfach über Kopf und Rücken, die inziidiert werden müssen. Alle Incisionswunden heilen langsam und schlecht, wenngleich, wie am Oberschenkel, die eigentliche Eiterung sistiert und nur ein schmutzig grauer Belag die Wunden ausstattet.

Am 11. März gesellen sich zu all diesen schweren Erscheinungen an Brust und Rücken des Kindes, ebenso wie an den seitlichen Thoraxpartien kleinere und größere rundliche, ovale, zum Teil zusammenfließende bläulich-graue Flecken. Dabei schwerer Verfall der Kräfte, häufiges Erbrechen, Erscheinungen, die der Therapie trotzend am 21. März den tödlichen Ausgang herbeiführen.

Die Sektion ergibt eine diffuse Bronchitis mit reichlichem Eitergehalt des Bronchien. Die inneren Organe zeigen sonst, bis auf die Nieren, nichts wesentlich Abnormes; nur in den Nieren finden sich einzelne rötliche Einsprengungen, die keilförmig in die Tiefe gehen (frische Infarkte); andere ähnliche Einsprengungen sind ausgesprochen eiteriger Natur. Es handelt sich so um einen Fall von Sepsis, für welchen zunächst das im Harn schon am 9. Febr. nachgewiesene *B. coli* verantwortlich gemacht wurde. Die genauere bakteriologische und kulturelle Prüfung des frisch aus dem Herzen entnommenen Herzblutes erwies aber den Gehalt des Blutes an *Pyocyaneus*; es wurde ferner *Pyocyaneus* aus den frischen Hautinfarkten am Thorax kultiviert. So erweist sich der ganze Fall als eine *Pyocyaneus*-Sepsis. Derselbe nähert sich durch die eigenartige Hauterkrankung der von mir als *Ecthyma gangraenosum* beschriebenen.

Soviel zunächst an Kasuistik. Daß dieselbe nicht etwa alle Fälle von *Pyocyaneus*-Infektion erschöpfen, welche im Laufe der Jahre im Krankenhaus vorgekommen sind, ist schon daraus verständlich, daß es nicht möglich ist, alle einschlägigen und auch nur verdächtigen Fälle einer methodischen bakteriologisch-kulturellen Prüfung zu unterwerfen. Man stößt vielmehr gelegentlich öfters auf *Pyocyaneus*, als man erwarten möchte, als Beweise dafür, wie viele Fälle der Beobachtung doch noch entgehen. *Pyocyaneus* ist aber augenscheinlich ein Bakterium mit malignen Eigenschaften. Das Charakteristische der *Pyocyaneus*-Erkrankung sind bei jüngeren Kindern augenscheinlich das Auftreten von blutig-schleimigen Diarrhöen, von mehr oder weniger ausgesprochen hämorrhagisch-nekrotischen Hautinfiltraten, von Cystitis und Pyelonephritis, von septischen Allgemeinerscheinungen bei meist niedriger Körpertemperatur.

den Faeces neben den obligaten Darmbakterien der *Pyocyaneus* kultiviert, der sich bei der Verfütterung für Mäuse als höchst giftig erwies, dieselben nach 3 Tagen tötete. — Wenige Tage darauf erkrankte ein auf derselben Abteilung und in demselben Zimmer gelagertes Kind von 6 Wochen, welches an einem Abszeß am Oberschenkel und einem Drüsenabszeß am Halse behandelt wurde, an einer blutigschleimigen Diarrhœe mit raschem lethalen Ausgange; auch hier fand sich bei der Sektion eine Enteritis follicularis mit geschwürigem Zerfall einzelner Follikel und Infiltration der Darmwand. Der bakteriologische Befund nach Kulturen aus den Faeces ergab gleichfalls neben den obligaten Darmbakterien den *B. pyocyaneus*. — Der dritte Fall betraf endlich ein 3½ Monate wegen eines Ekzems im Krankenhaus aufgenommenes Kind. Auch hier, nach Auftreten von erst wässerigen Diarrhœen, alsbald die Erscheinung blutigschleimiger Faeces, Kollapssymptome und Tod. Die bakteriologische Untersuchung ergab neben den obligaten Darmbakterien *B. coli* und *lactis* noch *Proteus* und *B. pyocyaneus*; hier erwies sich die Verfütterung von *Pyocyaneus*-Kulturen für Mäuse nicht so gefährlich, wie in den beiden ersten Fällen. Immerhin war bei 3 nebeneinander gelagerten Kindern, fast gleichzeitig — die Erkrankung des ersten Kindes setzte ein am 18. Oktober, des zweiten am 19. Oktober, des dritten am 26. Oktober — die gleiche schwere follikuläre Enteritis aufgetreten mit blutig-schleimigen Entleerungen und rasch tödlichem Ausgang. Bei allen dreien der Nachweis eines mit *B. pyocyaneus* identifizierten Bakterium in den Faeces.

In der epikritischen Betrachtung der Fälle wies ich darauf hin, daß der *Pyocyaneus* hier als spezifischer Erreger einer charakteristischen Erkrankung zur Geltung komme, und daß auf solche Weise epidemisch auftretende diarrhœische Affektionen in geschlossenen Anstalten durch Uebertragung von Kind zu Kind zustande kommen können. Es ist dies meines Wissens die erste derartige Beobachtung auf einer Säuglingsabteilung gewesen, wiewohl die Pathogenität des *B. pyocyaneus* überhaupt schon weit früher nicht unbekannt geblieben war. So ist in einer unter Schimmbuschs Leitung gearbeiteten Dissertation von Schäfer¹⁾ (aus Bergmanns Klinik) 1891 an der Hand experimenteller Studien die Gefährlichkeit der *Pyocyaneus*-Infektionen erwiesen und überdies mit Immunitätsversuchen gegenüber der Allgemeininfektion begonnen worden; ferner gibt Krannhals (Riga) bereits 1893²⁾ die tödliche Erkrankung eines 20-jährigen Arbeiters unter dem Einfluß der *Pyocyaneus*-Invasion kund, und auch er verweist schon auf die vorangegangenen einschlägigen Publikationen von Ehlers, Neumann, Oettinger, Karlinski, Charrin und Rumpf. Im gleichen Jahre mit meiner Publikation erschien eine kurzgefaßte Mitteilung von Levellys F. Barker³⁾ über *Pyocyaneus*-Erkrankung beim Menschen, in welcher hervorgehoben wurde, daß „the bacillus *pyocyaneus* is capable of entering the human organism and setting up disease processes of variable intensity sometimes of a violence leading to a fatal issue“. Insbesondere betont Barker auch noch die Bedeutung des *Pyocyaneus* als Krankheitserreger für die Darmschleimhaut⁴⁾. Auf

1) Alfred Schäfer, Beitrag zur Lehre von den pathogenen Eigenschaften des *B. pyocyaneus*. Inaug. Diss. Breslau 1891.

2) Krannhals, Wiener med. Presse. No. 46. 1893. p. 1814.

3) Levellys F. Barker, J. of the American medic. Assoc. 31. Juli 1897.

4) l. c. „In the mucous membrane of the alimentary tract superficial and deep inflammations of various sorts are common with the bacillus as an etiologic factor.“

die Gefährlichkeit der Pyocyaneus-Erkrankungen speziell für die Säuglinge ist alsdann Escherich¹⁾ zurückgekommen. Seither hat man den durch Pyocyaneus-Invasion erzeugten Krankheitsformen eingehende Aufmerksamkeit geschenkt, wie aus den umfangreichen zusammenfassenden Publikationen von Wassermann²⁾, Eugen Fraenkel³⁾ und der sehr zahlreichen kasuistischen Einzelmittelungen (s. bei Soltmann⁴⁾ der letzten Jahre bis in die jüngste Zeit (Klieneberger⁵⁾, Lewandowsky⁶⁾, Martin Hirschberg⁷⁾ (aus Wechselmanns Abteilung)] hervorgeht.

Mir selbst ist seit der damaligen Beobachtung (1897) der B. pyocyaneus einer der am meisten gefürchteten Krankheitserreger für die Kinderwelt, speziell für Säuglinge, geblieben; und mehrfach bin ich in meinen Publikationen darauf zurückgekommen, so 1900 gelegentlich der Mitteilung eines Falles von Ecthyma gangraenosum mit allgemeiner, durch Pyocyaneus-Invasion erzeugter Sepsis bei einem 1 Jahr 4 Monate alten Kinde. Es liegen mir nun neuerlich einige beachtenswerte Beobachtungen vor, die kurz im folgenden mitgeteilt werden mögen.

Aus dem Jahre 1902 ein in seinem ganzen Verlaufe höchst eigenartiger Krankheitsfall. Das erkrankte Kind, Martha Thomae, 5 Monate alt, ist mit dyspeptischen Erscheinungen und Krämpfen am 30. Aug. aufgenommen. Aus der langen sich bis zum 19. Dez. erstreckenden, an wechselnden Episoden reichen Krankengeschichte soll nur das Wichtigste hervorgehoben werden. — Das im ganzen leidlich genährte, nur bleich aussehende Kind zeigte in den ersten Tagen lediglich dyspeptische grüne, stark schleimige Stuhlgänge; alsdann gesellt sich eine Otitis media hinzu, welche Anlaß zu beiderseitiger Paracentese gibt, die geringe entleerte Eitermenge zeigt keine Besonderheiten. Die nächste neue krankhafte Erscheinung am 9. Aug. ist das Auftreten von reichlichen Leukocytenmassen im Harn (Cystitis); nebenher auch Blutkörperchen und Nierenepithelien im Harnsediment; dabei verfällt das Kind auffallend, während die Temperatur eher subnormal, als fieberhaft ist (36,5—37° C. an.). Am 20. Aug. wird fast reiner Eiter statt des Harns mittelst Katheter aus der Blase entleert. — Am 25. Aug. Auftreten eines Abzesses auf dem Rücken, während des Harn unter der Anwendung von antiseptischen Spülungen den geschilderten Eitercharakter mehr verliert. Auffallend ist eine aus feinsten Hämorrhagien sich zusammensetzende Verfärbung der Bauchhaut, die derselben ein blau-rotes marmoriertes Aussehen gibt. Größere Blutungen (Sugillationen) entstehen alsbald am Sternum und in der Halsgegend, dabei tiefster Kräfteverfall. — Diese Blutungen verbreiten sich nun auch immer weiter, auch über das Gesicht, die Stirn, die Streckseiten der Arme und Beine. Dieselben sind meist punktförmig klein, konfluieren aber an vielen Stellen zu unregelmäßigen Figuren. — Am 21. Okt. auf dem Osacrum ein kirschgroßer, wie mit dem Locheisen geschlagener Hautdefekt mit wallartigen Rändern; gleichzeitig treten nun starke Spasmen in allen Extremitäten auf; das Kind ist in der Zwischenzeit von dem Anfangsgewicht von 4400 auf 3750 zurückgegangen, dabei nicht fiebernd. Ganz allmählich scheint sich aber in der Folge die Ernährung zu bessern, wobei auch die diffusen Hautblutungen insbesondere auf der Bauchhaut zu verschwinden beginnen; auch das sacrale Decubitusgeschwür, welches inzwischen 2 cm lang und 1 cm breit geworden war, beginnt sich zu reinigen. Dagegen treten neue Hautgeschwüre, scharfrandige, wie mit dem Locheisen geschlagene Defekte auf der Kopfhaut auf und nebenher, weithin über die ganze Körpermuskulatur sich erstreckende schmerzhaft Spasmen mit den integrierenden Erscheinungen der Tetanie (Chvostek und Trousseau) und elektrischen Erregungssymptomen.

Am 7. Nov. zeigt sich an der Stelle einer früheren größeren Sugillation an der Vorderseite des Schultergelenkes eine markstückgroße, trockene, zum Teil schwarz verfärbte Stelle der Haut, umgeben von einem sehr scharfen eitrig verfärbten und weiterhin von einem breiteren hellroten Hof. Trotz dieses neuen Hautdefektes bessert sich das

1) Escherich, Centralbl. f. Bakteriöl. Bd. XXV. 1899. No. 4.

2) Wassermann, Virchows Archiv. Bd. CLXV.

3) Eugen Fraenkel, Virchows Archiv. Bd. CLXXXIII. p. 405.

4) Otto Soltmann, Deutsches Archiv f. klin. Med. Bd. LXXIII. 1902. p. 650.

5) Klieneberger, Münch. med. Wochensch. 1907. No. 27.

6) Lewandowsky, Münch. med. Wochensch. 1907. No. 46.

7) Martin Hirschberg (aus Wechselmanns dermatologischer Abteilung). — Ein Fall von akuter Orchitis, Deutsche med. Wochensch. 1907. No. 43.

Allgemeinbefinden des Kindes, das in seinem Wesen munterer wird und auch anfängt, an Gewicht zuzunehmen (3800 g). Auch das Aussehen des Harns bessert sich und der Leukocytengehalt tritt mehr und mehr zurück. Am 4. Dez. konnte ein eiterfreier Harn konstatiert werden; die Hautdefekte sowohl an der Schulter wie am Kreuzbein sind verheilt; die Blutungen auf der Haut verschwunden. Am 19. Dez. konnte das Kind mit einem Gewicht von 4560 g geheilt entlassen werden. Während der ganzen so seltsamen und wechselvollen Erkrankungsform war man instande gewesen, sowohl aus dem mittelst Katheters aus der Blase steril entnommenen Harn, wie auch aus dem Stuhlgang *B. pyocyaneus* charakteristisch und mit allen bekannten typischen Eigenschaften zu züchten, so daß Cystitis, Hautblutungen, Geschwüre und locheisenartige Hautnekrosen auf die Wirkungen des im Blute vorhandenen *Pyocyaneus* bezogen werden können. Leider ist eine direkt bakteriologische Blutuntersuchung damals unterblieben.

Bemerkenswert ist die enorme Widerstandsfähigkeit des so jungen Kindes gegenüber einer so schweren Allgemeininfektion mit *Pyocyaneus*. Auf der anderen Seite zeigt der Krankheitsfall doch, daß die Infektion mit *Pyocyaneus* nicht immer den deletären Verlauf zu nehmen braucht, den die oben berichteten früher zur Beobachtung gekommenen Krankheitsfälle zeigten. Augenscheinlich sind Virulenzschwankungen des Bakteriums an dem ungleich schweren Verlaufe beteiligt.

1903. Arnold Matthiae. 6 Monate alt, am 8. Sept. mit spritzender Diarrhöe und Erbrechen aufgenommen.

Das Kind macht einen tief verfallenen, sehr schwerkranken Eindruck. Unter der bei Brechdurchfällen im Krankenhause eingeführten Therapie, Senfbädern, Kochsalzinfusionen und abstinenter Diät wird das Kind zunächst eben nur erhalten, und die spritzenden Diarrhöen werden gemäßigt. Vom 15. Sept. ab traten an Zahl zwar noch reichliche (6), aber mehr schleimige und am 17. Sept. blutig-schleimige Stühle auf, welche bis zum 21. Sept. bestehen. In diesen Stuhlgängen ist *B. pyocyaneus* kulturell nachgewiesen. Unter geeigneter Behandlung mit Kochsalzinfusionen, Darmausspülungen, innerlichen Gaben von Bismutose und Diät wird das Kind hergestellt; am 20. Okt. geheilt entlassen.

Hier also unter dem Einfluß von *B. pyocyaneus* dieselbe Form der Darmerkrankung mit blutig-schleimigen Diarrhöen, wie die ersten oben wiedergegebenen, beobachteten Fälle.

1904. Ein ganz ähnlicher Fall, wie der vorstehend beschriebene, indes mit weit malignerem Verlauf, tödlichem Ausgang, unter allgemeinen *Pyocyaneus*-Sepsis. Ein 6 Monate altes Kind, Max Rohde, wird am 8. Sept. im Krankenhause wegen Diarrhöen aufgenommen. Das Kind hat bereits vor 4 Wochen einmal an Diarrhöen gelitten, jetzt auch Erbrechen mit Diarrhöe, nebenher heftige Hustenanfälle, indes nicht von dem Charakter des Keuchhustens. Das Kind ist schlecht entwickelt und augenscheinlich heruntergekommen. Subnormale Temperatur 34–37° C. Dünnschleimige, nicht blutige Stühle, 6–8 am Tage. Das Kind verfällt trotz Kochsalzinfusionen und geeigneter sonstiger Wartung (Darmspülungen etc.), Medikation (kleine Kalomelgaben, Bismuth) und Diät. Am 14. Sept. treten blutig-schleimige Beimischungen, auch Eiter im Stuhlgang auf, und die alsbald vorgenommene bakteriologisch-kulturelle Prüfung erweist *Pyocyaneus* im Stuhlgang. Das Kind stirbt unter fortschreitendem Verfall am 16. Sept. Das sofort nach dem Tode der Leiche entnommene Herzblut enthält *Pyocyaneus*. — Die Sektion ergibt als wesentlichen Befund stark geschwollene Peyersche Plaques, insbesondere dicht oberhalb der Bauhinischen Klappen, überdies die Dickdarm-Schleimhaut rau und aufgelockert, wie geschorener Sammet. Die Nieren zeigen keine sehr wesentlichen Veränderungen, nur der Parenchym der Leber erscheint getrübt und in den Lungen bronchopneumonische Herde.

Man muß wohl annehmen, daß der *Pyocyaneus*-Gehalt des Blutes, wenngleich das Bakterium erst nach dem Tode aus dem frisch entnommenen Herzblut kultiviert wurde, schon in vivo vorhanden war und an dem rapid tödlichen Verlaufe des Falles durch die allgemeine Infektion und Intoxikation ursächlich beteiligt ist. Auffällig ist auch in diesem Falle weiter, wie auch in anderen Fällen, der fieberfreie Verlauf mit Neigung zu subnormalen Temperaturen. Fast scheint dies, sofern nicht besondere Lokalisationen, wie Otitiden, Pneumonie etc. zu Tempe-

ratursteigerungen führen, zur Charakteristik der *Pyocyaneus*-Infektionen zu gehören.

1907. Das 1 Jahr alte Kind, Irma Mau, wird am 23. Januar mit Otitis media und hochfieberig (Temperatur bis 40° C.) aufgenommen; zu der Ohreiterung war eine diffuse Bronchitis gesellt. Die Verdauung erscheint normal. So der Verlauf unter hohen steilen Fieberbewegungen bis zum 9. Febr., wo die Erscheinungen einer Cystitis sich durch den trüben, eiterhaltigen Harn kund gaben. Aus dem steril entnommenen Harn wird *B. coli* gezüchtet. Das Kind verfällt sichtlich. Körperabnahme von 5820 bis 5470 g. Es treten überdies laryngospastische Attacken auf, welche immerhin dazu zwingen, mit der Vollmilchdiät vorsichtiger umzugehen und dieselbe zeitweilig gegen Kindermehlabbkochungen auszutauschen.

Am 17. Febr. treten Furunkel über der linken Scapula und auf dem linken Nates auf, die inziert einen mißfarbigen nekrotischen Eiter entlassen. An einer nicht inzierten Stelle am Oberschenkel tritt weiterhin eine von einer erysipelatösen Röte umgebene Infiltrationsstelle auf; tatsächlich verbreitet sich in den nächsten Tagen ein Erysipel über den Oberschenkel hinauf, während die Temperaturen äußerst schwankend sind, von Kollapstemperaturen 35,1° bis zu 40,4° C, zumeist zwischen 38° und 40° C wechseln. In den nächsten Tagen verschwindet unter Ichthyolsalbenverbänden das Erysipel; dagegen verbreiten sich Furunkel mehrfach über Kopf und Rücken, die inziert werden müssen. Alle Incisionswunden heilen langsam und schlecht, wengleich, wie am Oberschenkel, die eigentliche Eiterung sistiert und nur ein schmutzig grauer Belag die Wunden ausstattet.

Am 11. März gesellen sich zu all diesen schweren Erscheinungen an Brust und Rücken des Kindes, ebenso wie an den seitlichen Thoraxpartien kleinere und größere rundliche, ovale, zum Teil zusammenfließende bläulich-graue Flecken. Dabei schwerer Verfall der Kräfte, häufiges Erbrechen, Erscheinungen, die der Therapie trotzend am 21. März den tödlichen Ausgang herbeiführen.

Die Sektion ergibt eine diffuse Bronchitis mit reichlichem Eitergehalt des Bronchien. Die inneren Organe zeigen sonst, bis auf die Nieren, nichts wesentlich Abnormes; nur in den Nieren finden sich einzelne rötliche Einsprengungen, die keilförmig in die Tiefe gehen (frische Infarkte); andere ähnliche Einsprengungen sind ausgesprochen eiteriger Natur. Es handelt sich so um einen Fall von Sepsis, für welchen zunächst das im Harn schon am 9. Febr. nachgewiesene *B. coli* verantwortlich gemacht wurde. Die genauere bakteriologische und kulturelle Prüfung des frisch aus dem Herzen entnommenen Herzblutes erwies aber den Gehalt des Blutes an *Pyocyaneus*; es wurde ferner *Pyocyaneus* aus den frischen Hautinfarkten am Thorax kultiviert. So erweist sich der ganze Fall als eine *Pyocyaneus*-Sepsis. Derselbe nähert sich durch die eigenartige Hauterkrankung der von mir als *Ecthyma gangraenosum* beschriebenen.

Soviel zunächst an Kasuistik. Daß dieselbe nicht etwa alle Fälle von *Pyocyaneus*-Infektion erschöpfen, welche im Laufe der Jahre im Krankenhause vorgekommen sind, ist schon daraus verständlich, daß es nicht möglich ist, alle einschlägigen und auch nur verdächtigen Fälle einer methodischen bakteriologisch-kulturellen Prüfung zu unterwerfen. Man stößt vielmehr gelegentlich öfters auf *Pyocyaneus*, als man erwarten möchte, als Beweise dafür, wie viele Fälle der Beobachtung doch noch entgehen. *Pyocyaneus* ist aber augenscheinlich ein Bakterium mit malignen Eigenschaften. Das Charakteristische der *Pyocyaneus*-Erkrankung sind bei jüngeren Kindern augenscheinlich das Auftreten von blutig-schleimigen Diarrhöen, von mehr oder weniger ausgesprochen hämorrhagisch-nekrotischen Hautinfiltraten, von Cystitis und Pyelonephritis, von septischen Allgemeinerscheinungen bei meist niedriger Körpertemperatur.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Aetiologie des Trachoms¹⁾.

[Aus dem Institut für Hygiene der Universität Parma.]

Von Prof. **E. Bertarelli** und Dr. **E. Cecchetto**,
Leiter des Instituts. Assistenten an der Augenklinik.

Mit 1 Tafel.

Es soll hier nicht die Geschichte aller Versuche dargelegt werden, welche gemacht worden sind, um die Frage nach der Aetiologie des Trachoms zu lösen.

Man kann mit Sicherheit behaupten, daß die erste schätzbare Notiz über die Aetiologie des Trachoms mit der Entdeckung von Hess und Römer (2) zusammenhängt, welchen es zuerst gelang, das Trachom auf Affen zu übertragen. Die Versuche der Uebertragung auf Tiere wurden von einzelnen Autoren bestätigt: So wollen wir Halberstädter und Prowazek (2) erwähnen, welche behaupten, daß man ein experimentelles Trachom bei anthropomorphen Affen hervorrufen kann (sie sagen, daß ihnen die Uebertragung bei den *Simiae catarrhinae* nicht gelang). Auch wollen wir Bayardi (3) nennen, welcher auch bei dem *Cercopithecus* und dem *Makako* ein leichtes, aber deutliches Trachom erhalten haben soll.

Die zweite Notiz bezieht sich auf die Nichtfiltrierbarkeit des trachomatösen Virus, welche von Hess und Römer und von Bayardi behauptet wurde; diese Autoren haben dabei mit der gewöhnlichen Technik der Filtrierungen ohne besondere Handgriffe oder Maßnahmen operiert.

In bezug auf das ätiologische Agens besitzen wir bis jetzt keine bemerkenswerte Kenntnisse.

Es ist ein Verdienst von Halberstädter und Prowazek (4), diese Frage ins Feld gebracht zu haben. Diese Autoren behaupten in einer Reihe von kurzen Arbeiten, in den Epithelialzellen der Bindehaut von frischen Fällen von Affen- und Menschentrachom besondere Bildungen beobachtet zu haben, welche sie als spezifische Erreger des Trachoms ansprechen und systematisch als Chlamydozoen klassifizieren.

Diese Körper sind endozellulär und in der Nähe des Kernes gelegen und färben sich mit Giemsa's Flüssigkeit, wobei sie einen demjenigen des Nucleolus sich nähernden Ton annehmen. Zu einer guten Differenzierung empfehlen Verff. die Präparate bei einer sehr starken Vergrößerung und bei künstlichem Lichte zu untersuchen. Auf diese Weise soll man im Plasma der Bindehaut feine, kokkenähnliche, stellenweise diplokokkenförmig angeordnete Körperchen beobachten, welche bald größer, bald kleiner sind, immer jedoch kleiner als die gewöhnlichen Kokken. Sie sind in Platinmassen eingeschlossen, welche man als Reaktionsprodukte betrachten muß und bald getrennt, bald gruppiert sind. Im Innern solcher Massen befinden sich die Granularkörper.

Die Gruppierung der Granularteile ist stellenweise sehr charakteristisch: Man kann sehr typische zooglöische Gruppierungen beobachten,

1) Der experimentelle Teil dieser Arbeit (Einimpfungen, Filtrierungen, Beobachtungen usw.) wurden von Prof. Bertarelli ausgeführt. Dr. Cecchetto sammelte das Material und nahm an der Untersuchung der Präparate teil. Sowohl die Versuchstiere wie die Präparate wurden bei einer Sitzung der *Associazione medica parmense* (April 1908) und in der Augenklinik (Vorst. Prof. Gallenga) vorgetragen.

während anderweitig die Körperchen in unregelmäßiger Weise verteilt sind.

Etwas Ähnliches soll auch Greeff (5) beobachtet haben. Wenn man aber das Bildnis der Körperchen von Halberstädter und Prowazek mit den Figuren von Greeff vergleicht, kann man kaum die Ueberzeugung gewinnen, daß es sich um identische Erscheinungen handelt.

Wenn wir von einer sehr kurzen Arbeit von Carini absehen (6), welcher behauptet, den eben genannten Körpern entsprechende Bilder in Präparaten von menschlichem Trachom beobachtet zu haben, wurde bis jetzt keine kritische, noch bedeutende Arbeit über diesen Gegenstand veröffentlicht.

Es fragt sich nun in erster Linie, ob die beschriebenen Körperchen einen konstanten und spezifischen Befund des Trachoms darstellen, und zweitens erscheint es empfehlenswert, durch eine sorgfältige Untersuchung der internen Struktur dieser Körper festzustellen, ob dieselben wirkliche Parasiten darstellen oder als Reaktionserscheinungen anzusprechen sind.

Folgende Versuche, welche die Lösung dieser Fragen bezwecken, wurden teilweise mit experimentellem Material und teils mit klinischem Material aus der Klinik von Prof. Gallenga ausgeführt. Der experimentelle Teil unserer Beobachtungen wurde in dem Laboratorium von Prof. Rattone ausgeführt, welcher uns dasselbe in der freundlichsten Weise zur Verfügung stellte.

Experimentelles Trachom. Es kann heutzutage nicht mehr daran gezweifelt werden — obwohl Prowazek nicht dieser Meinung zu sein scheint — daß die unteren Affen für das Trachom empfänglich sind. Wir haben auch schon die Forscher genannt, welchen es gelang, das Trachom auf Affen zu übertragen.

Wir haben einen einzigen diesbezüglichen Versuch gemacht, und zwar nicht um eine Bestätigung einer bereits angenommenen Tatsache zu liefern, sondern um uns morphologisches Untersuchungsmaterial anzuschaffen. Wir haben am 17. Febr. 1908 die Tarsalbindehaut beider Augenlider eines ziemlich großen Makakos (*Inuus cynomolgus*) geimpft.

Nach 17 Tagen beobachteten wir an der rechten Bindehaut die ersten Reaktionserscheinungen. Gegen den oberen Rand des Tarsus und noch mehr gegen die Plica interna beobachtete man eine inselförmige Rötung mit erhabenen und deutlich sichtbaren Follikeln.

Nach einem Monat von der Impfung an war über das Resultat am rechten Auge absolut kein Zweifel mehr möglich: Am linken Auge kam erst später ein typisches Trachom zum Vorschein.

Nach 45 Tagen war das Trachom in vollster Entwicklung. Selbst beim Menschen kann man selten ein so florides Trachom beobachten.

Auch aus diesem Grunde haben wir diesen Fall mit einigen Einzelheiten erwähnen wollen. Die experimentellen Trachome von Bayardi waren nicht so deutlich ausgesprochen und können nicht — soweit einer von uns beurteilen kann, welcher mehrmals Gelegenheit hatte, sie zu beobachten — mit unserem wirklich imponierenden Falle verglichen werden.

Auch nach 3 Monaten ist unser Trachom noch in voller Entwicklung, und dabei sind keine Komplikationen von seiten der Hornhaut entstanden. Ueber den morphologischen Befund werden wir weiter unten berichten.

Filtrierbarkeit des Trachomvirus. Wir haben bereits gesagt, daß die zwei bisher bekannten Versuche, das Trachomvirus zu filtrieren, keinen positiven Ausgang gehabt haben. Diese Versuche haben jedoch

keinen beweisenden resp. überzeugenden Wert, wenn man an die Schwierigkeiten denkt, mit welchen die Filtrierung des Virus im allgemeinen verknüpft sind. So ist es bekannt, daß das Vaccinevirus nur dann filtriert werden kann, wenn man bei der Bereitung des Materials gewisse Maßregeln (Negri) in bezug auf Macerierung, Impfung usw. anwendet.

Außerdem begreift man, daß z. B. die Versuche von Bayardi a priori auf eine Schwierigkeit stoßen mußten: Da der Makako wenig empfänglich für das Trachom ist, kann der Mißerfolg einer Ueberpflanzung, bei welcher einfach etwas filtriertes Material unter die Bindehaut instilliert wurde, nicht als beweisend betrachtet werden.

Um unsere Versuche unter besseren Verhältnissen auszuführen, haben wir: 1) kein menschliches Trachomvirus, sondern Affenvirus angewendet; 2) das Material in zweckmäßiger Weise durch Macerierung in physiologischer Lösung und darauffolgender Zentrifugation des Filtrates bereitet; 3) bei der Einimpfung dieselben Handgriffe und Maßregeln angewendet, welche Negri bei seinen Versuchen mit filtriertem Vaccinevirus angewendet hat.

Der Versuch wurde deshalb in folgender Weise ausgeführt: Es wurden die Granulationen des Trachoms eines Makakos (die Diagnose Trachom war durch die Autorität von Prof. Gallenga gesichert, welcher den ganzen Verlauf unserer experimentellen Trachome beobachtete) abgeschabt und verschiedene Stückchen der Schleimhaut ausgeschnitten und zerhackt. Das Ganze wurde 50 Stunden lang bei kühler Temperatur in einem geringen Quantum physiologischer Lösung gelassen, so daß wir eine homogene Suspension erhielten. Der Brei wurde unter einem Druck von 1,5 Atmosphären durch eine kleine, 2 m lange, an einem geeigneten Muff befestigte Berkefeld-Kerze, vermittelt einer Gay-Lussac-Pumpe filtriert. Es wurden weniger als 2 ccm Filtrat gesammelt. Die Berkefeld-Kerze wurde auf ihre Durchgängigkeit für Keime vermittelt B. prodigiosus geprüft und tatsächlich für denselben undurchgängig gefunden.

Mit dem Filtrat wurden einige Präparate angefertigt. Das Filtrat selbst wurde zentrifugiert und ca. die Hälfte der überstehenden Flüssigkeit entfernt.

Dann wurde die Tarsalbindehaut eines Auges eines Makakos wund gemacht, das Auge eine Viertelstunde aufgelassen und in dasselbe der dickere Teil des Zentrifugates instilliert.

Am anderen Auge wurde die Einimpfung in folgender Weise ausgeführt: Man machte die Bindehaut und die Hornhaut wund, durchtränkte ein kleines Wattebäuschchen mit dem filtriertem Material, hielt es ungefähr eine halbe Stunde gegen die wunden Stellen, unter die vermittelt einer Pinzette geschlossen gehaltenen Augenlider, wonach man es entfernte.

Nach 8 Tagen schien die durch das operative Trauma bedingte lokale Reaktion verschwunden. Dagegen kamen 20 Tage nach der Einimpfung am rechten Auge deutliche Veränderungen zum Vorschein: Die Tarsalbindehaut war gerötet, infiltriert, besonders in der Nähe der Fornices, und man fing an, deutliche Granulationen zu beobachten. Nach 40 Tagen war das Trachom an einem Auge ein sehr deutliches, am anderen dagegen die Hyperämie und die Granulierung viel weniger ausgeprochen.

Daraus geht hervor, daß man vermittelt einiger Handgriffe das Trachomvirus durch Berkefeld-Kerzen filtrieren kann.

Es sei hinzugefügt, daß der morphologische Befund dieses Affen genau durch den klinischen Befund bestätigt wurde.

Mit der Evolution des experimentellen Trachoms, der eventuellen Entstehung von Hornhautveränderungen und der gleichzeitigen Evolution der mikroskopischen Befunde werden wir uns wieder später beschäftigen. Vorläufig wollten wir nur die Filtrierbarkeit des Trachomvirus hervorheben.

Die Trachomkörperchen. Wir haben zahlreiche Präparate angefertigt und dabei sehr verschiedenes, d. h. von infizierten Affen, von an Bindehautentzündungen verschiedener Natur kranken Tieren (Kaninchen), von an trachomkranken Menschen und von an verschiedenartigen Bindehautentzündungen kranken Menschen entnommenes Material angewendet.

Die von uns angewendete Technik war immer folgende: Untersuchung von Frischpräparaten, stellenweise auch Untersuchung in Gutta pendens, Untersuchung mit Zeiss' Paraboloid, Untersuchung mit gefärbten Präparaten.

Auch haben wir einige vom trachomatösen Menschen und Affen entnommene Stücke fixiert, jedoch werden wir uns mit dem Befunde der Schnitte später beschäftigen.

Am besten haben uns bis jetzt zur Untersuchung die Streichpräparate gedient.

Dieselben wurden gewöhnlich mit Alkohol oder mit Alkoholäther fixiert und mit verschiedenen Methoden gefärbt: Hämatoxylin, Eisenhämatoxylin, Gram, Giemsa, verdünntes Giemsa.

Die Befunde, welche wir beschreiben werden, beziehen sich alle auf Giemsa-Präparate. Sehr gut hat sich eine schwache Giemsa-Lösung bewährt, [10 ccm Wasser, 1—2 Tropfen Giemsa (fertige Lösung von Grübler) 15—20 Stunden lange Färbung], welche eine bessere Differenzierung der Farben ermöglicht.

Experimentelles Trachom. Schon 18 Tage nach der Einimpfung des Trachoms beim Makako kann man in den Bindehautzellen einige Bildungen zum Vorschein bringen, über deren Bedeutung wir uns nicht aussprechen wollen, welche aber in den normalen Bindehautzellen fehlen. Diese Erscheinungen betreffen jedoch eine geringe Zellenzahl. Erst 40 bis 42 Tage nach der Einimpfung des Trachoms finden sich beim Makako die genannten Bildungen auf mehrere Elemente verbreitet.

In den Frischpräparaten kann man einige Erscheinungen beobachten, welche auf eine im Inneren der Zellen stattgefundene Veränderung hindeuten. In einigen Elementen beobachtet man nämlich einen Teil, welcher eine von der normalen verschiedene Refringenz und stellenweise ein granulöses, unbestimmtes Aussehen aufweist. In einigen Fällen machen die Frischpräparate bei der mikroskopischen Untersuchung den Eindruck, als ob im Protoplasma eine besondere, von den übrigen Teilen differenzierte Zone vorhanden wäre. Man kann jedoch auf keinem Wege diese unbestimmten Bilder prüfen, aus welchen — darauf sei gleich hingewiesen — keine Schlußfolgerungen gezogen werden können. Weder durch künstliche Beleuchtung, noch durch Behandlung mit schwachen Alkalien kann man dabei etwas genaues feststellen. Es beschränkt sich deshalb bei den Frischpräparaten alles auf den besonderen Eindruck der Anwesenheit von körnigen Massen, welche in ihrem Aussehen und ihrer Refringenz etwas von den übrigen Teile des Zellenprotoplasmas abweichen.

Durch die ultramikroskopische Untersuchung wurde nichts Interessantes entdeckt. Es fehlen immer bewegliche Körperchen. Nur in einigen Zellen findet man Massen, welche ihrer Helligkeit wegen von der

übrigen Zellenportion abweichen; dieser Befund ist jedenfalls zu arm, um irgend etwas daraus folgern zu können.

Die Streichpräparate wurden mit Giemsa's Flüssigkeit, mit Chloralhämatoxylin und mit Eisenhämatoxylin gefärbt. Die Hämatoxylinfärbung bringt nichts Besonders zum Vorschein, wenigstens liefert sie keine Bilder, deren Klarheit mit derjenigen verglichen werden kann, welche man mit Giemsa's Lösung erhält. Eisenhämatoxylin liefert keine Färbungen, auf deren Grund man ein sicheres Urteil aussprechen kann. Höchstens beobachtet man stellenweise in einzelnen Zellen eine ausgesprochenere Färbung einiger Punkte.

Da diese Lösung unbefriedigende Resultate gegeben hat, lassen wir hier die Beschreibung der entsprechenden Befunde aus; wir werden dieselbe Färbung wieder bei den Schnitten versuchen, wo vielleicht bessere Resultate erzielt werden können.

Wir haben bereits gesagt, daß zwei verschiedene Verdünnungen der Giemsa'schen Lösung angewendet wurden, d. h. entweder die gebräuchliche Verdünnung von 10 Tropfen der Lösung in 10 ccm Wasser oder eine schwache Lösung von 1 Tropfen in 10 ccm Wasser, wobei die Färbung 24 Stunden lang dauerte. Die zweite Methode liefert sehr deutliche und klare Präparate; leider bleichen diese Präparate in sehr kurzer Zeit ab.

Die erhaltenen Befunde sind verschieden und scheinen uns nicht alle untereinander vergleichbar. Wir wollen deshalb vorläufig von jeder Betrachtung Abstand nehmen und uns auf die Beschreibung der Befunde beschränken.

Die erhaltenen Bilder können in verschiedene Gruppen resp. Figuren geteilt werden:

1) Stellenweise beobachtet man in den Bindehautzellen, gegen das eine Ende der Zelle und unabhängig vom Kern einen mehr oder weniger glatt umschriebenen, unregelmäßig dreieckigen, mehr oder weniger kompakten Körper, welcher sich rötlich-violett, mit mehr oder weniger dunklen Nuancen färbt. Einige dieser Körperchen erscheinen intensiv gefärbt, andere nicht so dunkel. Stellenweise — aber nicht immer — beobachtet man einen helleren Grund und in demselben dunklere Punkte. Jedoch entspricht der durch diese Körper (s. Taf. Fig. 2, 3, 5) gemachte Eindruck kaum einigen der Bilder, welche Prowazek bei seiner Behandlung über die Chlamydozoen anführt. In mehreren Fällen ist der Körper nicht homogen und dunkel gefärbt, sondern erscheint aus einem unregelmäßigen Geflecht chromatischer Substanz gebildet, welche im Zellenprotoplasma nach einem gewissen morphologischen Plan verteilt ist.

2) In verschiedenen Bindehautzellen beobachtet man unregelmäßige, rötlich-violett gefärbte, hier und da im Protoplasma zerstreute Massen verschiedener Größe und Form und in verschiedener Zahl. (Es handelt sich hierbei [Fig. 1] ohne Zweifel um die Massen, welche Prowazek als plastische Reste betrachtet, herstammend von der Platinmasse, welche die Chlamydozoen umhüllen und einschließen mußte.) Bei der Färbung mit Giemsa's Lösung nahmen diese Massen einen sehr verschiedenen Farbenton an. Bald hat man unregelmäßige, deutlich rote Massen, bald haben dieselben dagegen eine violette Farbe, ähnlich derjenigen der Kerne. Ihre Zahl, Verteilung und Häufigkeit sind sehr verschieden.

3) In einigen Zellen stehen die Sachen etwas anders. Es fehlen die genannten, bald hutförmigen, bald halbmondförmigen, bald dreieckigen

Massen, dagegen beobachtet man auf den ersten Blick gegen das eine Ende der Zelle eine besondere, typische, rötliche Verkörnung (Granulation), welche von einem unerfahrenen Beobachter auch als eine Erscheinung der Metachromasie angesprochen werden könnte.

Bei einer sorgfältigen Untersuchung sieht man mehr oder weniger deutliche, bald rundliche, bald etwas längliche Körnchen, welche eine rote Färbung annehmen, mit einer schwachen Neigung zum Violett. In einigen Zellen sammeln sich diese Körnchen an einem Ende zu einer kleinen körnigen Zone zusammen. In anderen Zellen sind sie mehr oder weniger unregelmäßig im Protoplasma zerstreut.

In einigen Fällen sind die Körnchen deutlich umschrieben und scheinen direkt in die protoplasmatische Substanz versenkt, in anderen Fällen sind sie von einer Masse, oder wenigstens von einem undeutlichen, rötlich-violetten Geflecht umgeben (Fig. 3 links, 4, 5 rechts).

Stellenweise hat man den Eindruck, als ob sich die Zelle an einem Ende geöffnet hätte und die Körnchen nach außen getreten wären und sich außerhalb der Zelle zerstreut hätten.

Man beobachtet übrigens alle die verschiedensten Zwischenstufen, von der Anwesenheit weniger Körnchen bis zur kompletten Invasion der Zelle.

Dies sind, schematisch zusammengefaßt, die Bilder, welche beobachtet wurden; natürlich fanden sich auch Zwischenformen. Diese Befunde können auf den ersten Blick von denjenigen verschieden erscheinen, welche wir in bezug auf das menschliche Trachom erwähnen werden. Jedoch ist auch bei gewissen Affenzellen eine gewisse Analogie zwischen Affenkörnchen und Menschenkörnchen zu erkennen.

Die Zahl der nach 50 Tagen befallenen Zellen war eine erhebliche; es waren nur die Bindehautzellen befallen.

Trotzdem wir uns sehr in diesem Sinne bemühten, konnten wir kein deutliches Verhältnis zwischen den verschiedenen beobachteten Formen und dem klinischen Verlauf feststellen. Die Figuren der verschiedenen Typen wurden immer, sowohl bei Beginn der Erscheinungen wie drei Monate nach der Einimpfung beobachtet. Höchstens könnte man sagen, daß die Formen, welche sich am meisten einem degenerativen Charakter nähern, 45 Tage nach der Impfung häufig wurden.

Es sei hinzugefügt, daß in Präparaten von normalen Makakos nichts Ähnliches zu beobachten ist.

Menschliches Trachom. Wir haben 16 Fälle von Trachom, und zwar 6 frische und 10 alte Fälle untersucht. In allen frischen Fällen haben wir die Formen gefunden, welche wir als typisch für die menschliche Trachominfektion beschreiben werden. In 9 alten Fällen haben wir nichts Besonderes vorgefunden. Es handelt sich dabei um sehr alte Fälle.

In einem chronischen Fall haben wir fragliche Formen beobachtet, welche vielleicht als typische Körper angesprochen werden könnten, jedoch so deformiert waren, daß wir ein endgültiges Urteil über dieselben nicht wagen.

Es sei zuerst betont, daß wir bei keiner anderen Erkrankung außer dem menschlichen Trachom die besonderen Formen beobachten konnten, welche wir beschreiben werden. Weder bei gonorrhoeischen Bindehautentzündungen noch bei follikularen, katarrhalischen Conjunktivitiden konnten wir irgend was finden, was mit den genannten Formen eine Ähnlichkeit gehabt hätte.

Deshalb müssen die Prowazekschen Körper als spezifisch betrachtet werden.

Höchstens wird man in gewissen Bindehautzellen während entzündlicher Prozesse rot oder rötlich-violette Körnchen zum Vorschein bringen können, in keinem Fall aber findet man typische Formen wie diejenigen, welche Prowazek beschrieben hat.

Zweitens sind Prowazeks Körper immer äußerst selten. In einem an Elementen sehr reichen Präparat findet man fast nie mehr als 7–8 infizierte Zellen, und oft muß man 2–3 Präparate untersuchen, um einen Körper zu finden.

Die Körper haben folgendes Aussehen: Meistens in der Nähe des Kernes, jedoch auch stellenweise entfernt von demselben, beobachtet man rundliche oder ovale (kleine Formen) (Fig. 6), deutlich vom Zellenprotoplasma abgegrenzte Körperchen. Jedes einzelne Körperchen erscheint aus einer mehr oder weniger dunklen bläulichen oder violetten Grundsubstanz gebildet, und aus mehr oder weniger zahlreichen, runden, bald dicht angesammelten, bald seltenen Körnchen. Die Körnchen sind von einer Masse umgeben, welche die Grundsubstanz bildet; in der Umgebung der Körnchen ist die Substanz verdünnt, so daß sie stellenweise das Aussehen eines farblosen Hofes annimmt.

Die Grundsubstanz ist stellenweise violett oder bläulich; die Körnchen sind violett, stellenweise mit rötlichen Nuancen, sie sind jedoch in einigen, auch gut gefärbten und differenzierten Präparaten blaufärbt (Fig. 6, 7, 8).

Die Größe der Körnchen ist mehr oder minder konstant, dagegen sind die Form und das Volumen der Körper in ihrem Ganzen ziemlich verschieden. Bald sind sie dreieckig, bald besetzen sie den größten Teil der Zelle. Ihr Aussehen ist nicht ganz genau mit demjenigen der schönen Figuren vergleichbar, welche Prowazek in seiner Arbeit über die Chlamydozoen beschreibt. Jedenfalls sieht man deutlich, daß die Körnchen von den Protoplasmakörnchen unabhängig sind. In einigen seltenen Exemplaren macht es den Eindruck, als ob die Ansammlung von Körnchen einen Druck auf den Kern ausgeübt und denselben deformiert und nach der Peripherie geschoben hätte. Bei den Figuren von Prowazek ist aber das allgemeine Aussehen ein anderes.

Wer aber die zwei der Arbeit von Greeff beigelegten Tafeln mit Aufmerksamkeit betrachtet und die Arbeit selbst aufmerksam liest, überzeugt sich, daß dieser Autor die genaue Form und die Bedeutung dieser Körper nicht hervorgehoben hat. Er beschreibt in seiner Arbeit hauptsächlich diplokokkenähnliche Formen, welche dieselben wie die in der lithographischen Tafel dargestellten sind, und keine besondere Bedeutung haben können — jeder Mikrobiologe wird bei einer starken Vergrößerung in Strichpräparaten sehr leicht überall solche Körperchen finden — und jedenfalls nichts Gemeinsames mit den Prowazekschen Körpern haben.

Wir haben durch mühsame Wiederholung der Untersuchungen versucht, einen sicheren Zusammenhang zwischen diesen Formen festzustellen; bis jetzt aber können wir nicht auf einen solchen schließen. Die größeren Formen wechseln mit den anfänglichen Formen ab, und die Körnchen scheinen stellenweise aus den kleineren besser als aus den größeren Formen hervorzutreten.

Wir haben uns auch bemüht, die Bilder von alveolaren Körpern zu finden, wie sie Prowazek in einem einzigen Präparate darstellt, und haben in einem einzigen Falle (das Präparat ging verloren, weshalb wir es nicht abbilden können) etwas ähnliches gefunden, d. h.

längliche Körperchen, mit einem schwach bläulich-rot gefärbten Stroma, mit leeren Räumen, welche stäbchenförmige, in Chromatinrot gefärbte Körperchen enthielten. Dieser Befund muß jedoch — wie bereits gesagt — äußerst selten sein.

Wir haben uns bemüht, die Bilder, welche in den Präparaten von Affen- und menschlichem Trachom gefunden werden, mit Genauigkeit wiederzugeben. Nun sei einiges gesagt über ihre Häufigkeit, Verteilung und Spezifität.

Auf Grund des Gesagten glauben wir nicht alle die Bildungen auf die von Prowazek beschriebenen Formen zurückführen zu müssen.

Die Darlegung von Prowazek erscheint anziehend und ingeniös, wir glauben jedoch, nachdem wir viele Trachomfälle beobachtet und einige hundert Präparate untersucht haben, seinen Schlußfolgerungen vorläufig nicht beitreten zu müssen.

Es erscheint bis jetzt logisch, anzunehmen, daß es bei dem Trachom gewisse spezifische Bildungen gibt, welche man zu einigen Gruppen vereinigen kann und welche vielleicht unter sich durch ein noch nicht bewiesenes Verhältnis verbunden sind.

Die Prowazekschen Bildungen, welche dieser Autor in seiner Arbeit über die Chlamydozoen abgebildet hat, sind äußerst seltene Ausnahmen; auch die von ihm empfohlene künstliche Beleuchtung erlaubt vorläufig nicht, die Bilder in dem von ihm angegebenen Sinne zu deuten.

Ihr Aussehen ist bei Affen und Menschen ein verschiedenes. Bei den Affen findet man Formen, welche als Erscheinung einer Zellenveränderung (Karyorrhesis, Chromatolysis) gedeutet werden können. In diesem Sinne scheint es uns, gewisse Formen deuten zu müssen, welche Prowazek als plastinische Massen betrachtet. Daneben gibt es andere Formen, welche man mit geringerer Wahrscheinlichkeit als Entartungserscheinungen deuten kann; es sind dies die Formen mit körnigen Ansammlungen und zerstreuten Körnchen.

Die roten diffusen Körnchen könnten auch anders als durch eine parasitäre Abstammung erklärt werden. Auch in den Bindehautzellen der Kaninchen bei septischer Bindehautentzündung, oder in denjenigen des Menschen bei blennorrhagischer Conjunctivitis findet man stellenweise im Zellenprotoplasma Ansammlungen von feinen, durch Giemsa's Lösung rot färbbaren Körnchen. Dieser Befund kann jedoch, sowohl in bezug auf seine Häufigkeit wie auf sein Aussehen, nicht mit demjenigen unserer trachomatösen Affen verglichen werden.

Beim Menschen haben dagegen die Prowazekschen Körper immer ein eigentümliches Aussehen, welches sich keiner der bekannten Entartungen nähert, und ihr Vorhandensein ist, wie gesagt, spezifisch. Jedenfalls können sie mit größerer Wahrscheinlichkeit für Parasiten, als für Inklusionen angesprochen werden.

Wie gesagt, scheint uns vorläufig die Prowazeksche Deutung etwas gewagt; wir werden uns übrigens mit dem Zyklus dieser Körper wieder beschäftigen, nachdem wir ein reichlicheres Material gesammelt haben werden.

Die trachomatösen Einschließungen sind jedoch jedenfalls spezifisch, und sind mit größerer Wahrscheinlichkeit als parasitäre Elemente, denn als reaktive Inklusionen zu betrachten.

Literatur.

- 1) Bericht über die XXXII. Versammlung der ophthalmologischen Gesellschaft. Heidelberg 1905.
- 2) Halberstädter u. Prowazek, Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte 1907.
- 3) Baiardi, La Clinica oculistica 1907.
- 4) Halberstädter u. Prowozek, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. April 1907.
—, Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 32.
Prowazek, Arch. f. Protistenk. 1907.
- 5) Greeff, Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 23—27.
—, Frosch u. Claussen, Arch. f. Augenheilk. 1907. No. 38.
- 6) Carini, Revista medica de S. Paulo 1907.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Bindehautzellen eines Makakos mit Trachom (70 Tage nach der Einimpfung).

Fig. 2 u. 5. Bindehautzellen eines Makakos mit experimentellem Trachom (40 bis 70 Tage nach der Einimpfung).

Fig. 3 u. 4. Färbung mit Giemsa's Lösung, sehr verdünnt, 24 Stunden.

Fig. 6, 7 u. 8. Bindehautzellen in drei verschiedenen Fällen von menschlichen frischen Trachom.

Apochr. Zeiss 2 mm. n. a. I,4 = Tubus 16 cm. Okul. comp. 8. Färbung Giemsa.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren.

[Aus der Universitäts-Frauenklinik.]

Von Dr. E. Saul, Berlin.

Die vorliegende Publikation wird ergänzt durch meine früheren Veröffentlichungen über denselben Gegenstand. (Vergl. Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 14. p. 494 ff.; ebenda 1906. No. 17. p. 697 ff.; Berliner klin. Wochenschr. 1905. No. 14. p. 406; Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XLII. 1906. Heft 6; ebenda Bd. XLVIII. 1907. Heft 7; ebenda ebenda Bd. XLIV. 1907. Heft 5.)

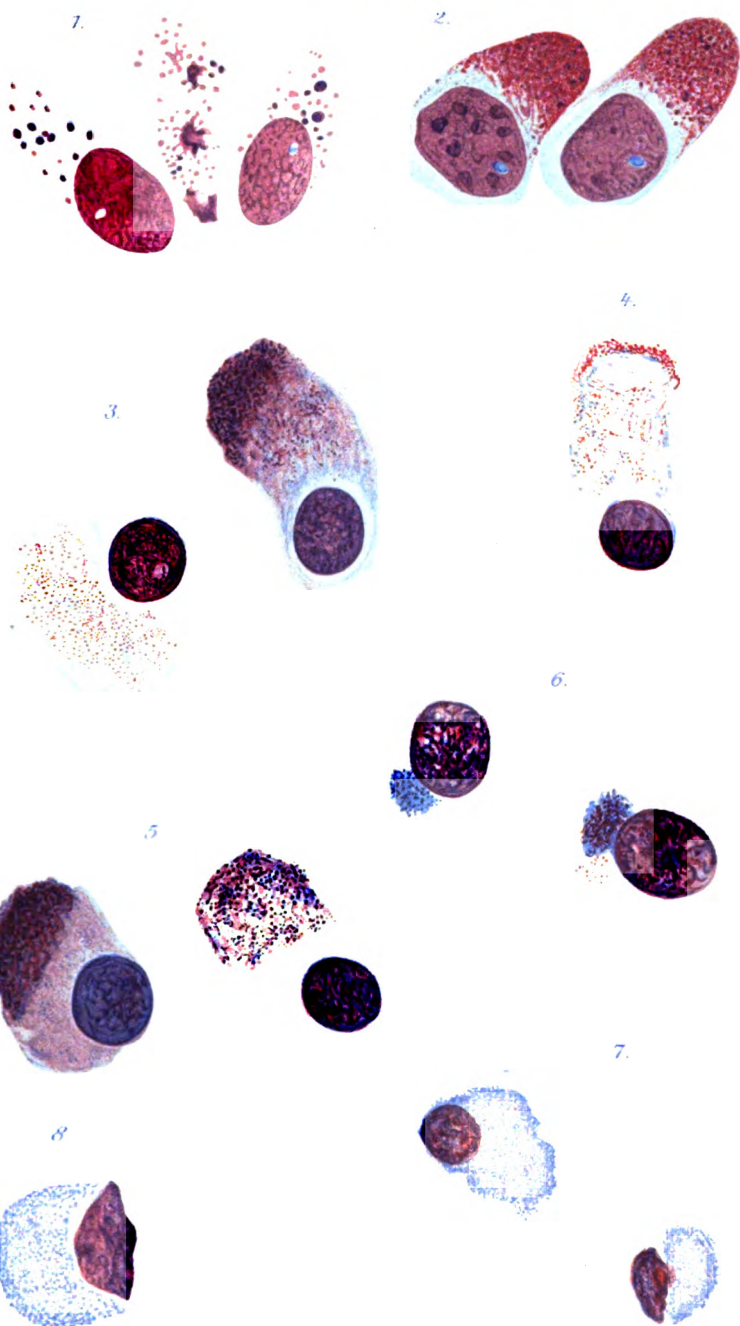
Die Statistik, Kasuistik, die klinische, epidemiologische und experimentelle Forschung lehren, daß das Carcinom eine übertragbare Krankheit ist, die gelegentlich in seuchenartiger Verbreitung auftritt. Krankheiten dieser Art rechnen wir zu den Infektionskrankheiten. Es ist aber hervorzuheben, daß das Carcinom unter ihnen eine Sonderstellung einnimmt, wie durch histologische Untersuchungen tausendfach bewiesen wurde.

(Bei Diskussionen, welche die parasitäre Aetiologie des Carcinoms betreffen, ist die Bezugnahme auf Chorionepitheliome und ähnliche onkologische Raritäten völlig unzulässig, weil diese Tumoren die Postulate der Uebertragbarkeit und seuchenartigen Verbreitung nicht erfüllen.)

Diejenigen Autoren, welche noch in jüngster Zeit gegen die parasitäre Aetiologie des Carcinoms opponierten, haben die Gesamtheit der zu berücksichtigenden Argumente nicht vor Augen gehabt.

Ribbert¹⁾ erörtert, daß mit seiner Auffassung, die Carcinomzellen an und für sich seien Parasiten, auch diejenigen, welche für das Carcinom

1) Ribbert, Menschliche Zellen als Parasiten. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 9.)



eine parasitäre Aetiologie in ganz anderem Sinne behaupten, sich zufrieden geben könnten. Diese These, welche an die alte, längst verlassene Lehre von Adamkiewicz erinnert, ist weder vom Standpunkte der allgemeinen Biologie noch von demjenigen der Prophylaxe oder der Therapie billigenswert. Ribbert deutet an, daß er in Uebereinstimmung mit Klinikern und Pathologen für die Leukämie eine parasitäre Aetiologie vermutet, und daß er dieselbe als bösartige Tumorerkrankung des Blutgewebes, also als Sarkomatose, betrachtet. Wenn Ribbert demgemäß für die nicht kohärenten Sarkome, deren Ursprungsstätte die blutbildenden Organe sind, eine parasitäre Aetiologie annimmt, so kann er dieselbe für die kohärenten Sarkome¹⁾ prinzipiell nicht leugnen. Da das Sarkom und das Carcinom durch scharfe Grenzen²⁾ voneinander nicht geschieden sind, so gelangen wir in Verfolgung der Darlegungen Ribberts zu dem Postulat, die Leukämie, das Sarkom und das Carcinom in eine einheitliche Gruppe von Krankheiten einzuordnen, die ätiologisch unter ähnlichen Gesichtspunkten betrachtet werden können.

Andersens Behauptung (Norsk mag. f. Laegevid. 1907. No. 8), daß keine Infektionskrankheit, ähnlich wie der Krebs, eine bestimmte Altersperiode bevorzuge, ist nicht zutreffend. Wie die Diphtherie, die Scarlatina, die Morbillen, das Sarkom hauptsächlich die Jugend bedrohen, so beobachten wir carcinomatöse Erkrankungen besonders in den höheren Altersklassen. Im übrigen hat Wutzdorf nachgewiesen (Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 10), daß bei der wachsenden Frequenz des Carcinoms auch das jugendliche Alter häufiger dieser Krankheit verfällt. 87 Fälle carcinomatöser Erkrankungen im Kindesalter zitiert Philipp in einer Studie, die unter Leitung von Lubarsch durchgeführt ist (Zeitschr. f. Krebsforschung. 1907).

Aus der Tatsache, daß mehrere Autoren ihren Versuchstieren durch Vorbehandlung mit nicht spezifischem Material einen Schutz gegenüber experimenteller Krebsübertragung verleihen konnten, darf nicht gegen die parasitäre Aetiologie des Carcinoms gefolgert werden, da in der einschlägigen Literatur zahlreiche Experimente vorliegen, in denen Mäuse, Ratten und Meerschweinchen mit nicht spezifischen Mitteln gegen exquisite Infektionskrankheiten geschützt wurden. Aus dem Berichte von W. Kolle³⁾ über Schutzimpfungen gegen Pest entnehme ich folgende Daten:

Von 398 mit Pestserum vorbehandelt. Tieren überlebt. d. Impfung mit Pest 77 Tiere = 19 %
 „ 198 „ nicht spezif. Serum „ 12 „ = 6 %
 „ 82 nicht vorbehandelten Tieren überlebte keines die Impfung mit Pest.

Die Erfahrung anderer Autoren, daß Mäuse, die zuerst mit negativem Erfolge geimpft wurden, auch gegen wiederholte Impfungen mit Krebs immun sind, konnte ich nicht bestätigen. Auch zeigte das Impfmateri-
 al, über welches ich verfügte, bei der Uebertragung von Maus auf Maus

1) Vergl. Schmidt, M. B., Die Verbreitungswege des Carcinoms u. s. w. Jena 1903. p. 91: „Eine Lösung des inneren Zusammenhanges zwischen Lymphosarkom und den Lymphombildungen der Leukämie und Pseudoleukämie ist nicht möglich.“

2) Vergl. Gebhard, Pathologische Anatomie der weiblichen Sexualorgane. Berlin 1899. p. 116: „Die beiden großen Gruppen der malignen Geschwülste sind als wissenschaftliche Begriffe nicht mehr aufrecht zu erhalten; es ist oft leichter, aus dem histologischen Bau die Benignität von der Malignität, als die carcinomatöse von der sarkomatösen Struktur zu unterscheiden.“

3) Kolle, W., Bericht des Instituts für Infektionskrankheiten. (Klin. Jahrb. Bd. IX. 1902.)

keine gesteigerte Virulenz. Nachdem in der ersten und dritten Generation das relative Maximum positiver Uebertragungsergebnisse erreicht war, sank in den nächsten Generationen die Zahl der Versuchstiere, die positiv reagierten, schließlich auf Null. Dieses Resultat ist ähnlich demjenigen von Bashford, Bowen, Murray und L. Loeb (vergl. Zeitschr. f. Krebsforschung. Bd. V. 1907. Heft 3).

In der beigefügten Tabelle habe ich eine Uebersicht meiner Uebertragungsversuche gegeben. Diejenigen Tiere, welche innerhalb der ersten 6 Tage nach der Impfung starben, sind nicht berücksichtigt. Jede Ziffer entspricht der Nummer einer Maus. Die horizontalen Striche unter den Ziffern bedeuten die Zahl der an ein und demselben Tier wiederholten Impfungen. Die schwachen Horizontalstriche zeigen negative Impfungen an, die starken Striche positive.

I. Generation.

9 Mäuse wurden geimpft; 3 Mäuse positiv:
 1. 2. 3. 4. 5. 12. 13. 14. 15.
 positiv negativ

II. Generation.

18 Mäuse wurden geimpft; 2 Mäuse positiv:
 10. 20. 4. 5. 6. 9. 11. 21; 22. 23. 24. 25. 26. 27. 28. 29. 30. 31.
 positiv negativ

III. Generation.

9 Mäuse wurden geimpft; 3 Mäuse positiv:
 6. 10. 11. 4. 5. 9. 26. 28. 31.
 positiv negativ

IV. Generation.

12 Mäuse wurden geimpft; 3 Mäuse positiv:
 11. 36. 10. 4. 5. 9. 28. 42. 43. 47. 49. 51.
 positiv negativ

V. Generation.

10 Mäuse wurden geimpft; 1 Maus positiv:
 47. 54. 55. 56. 58. 59. 60. 61. 62. 64.
 positiv negativ

VI. Generation.

15 Mäuse wurden geimpft; keine Maus positiv.

In der	I. Generation	wurden 33	Proz. positive Impfungen erzielt
" "	II.	11	" " " "
" "	III.	33	" " " "
" "	IV.	25	" " " "
" "	V.	10	" " " "
" "	VI.	0	" " " "

An der Hand der betreffenden Photogramme möchte ich die Befunde, welche die mit positivem Erfolge geimpften Mäuse darboten, später schildern und mich zunächst auf folgende Bemerkungen beschränken.

Während die Uebertragung eines Spontantumors, der den Bau des papillären Adenocarcinoms der Mamma darbot, verhältnismäßig leicht gelang, habe ich ein teleangiektatisches Carcinom, das gleichfalls der Mamma einer Maus angehörte, nicht mit Erfolg verimpft. Da mir nur

zwei Spontantumoren der letzteren Art zur Verfügung standen, so möchte ich ausdrücklich hervorheben, daß Bashford¹⁾ und seinen Schülern die Uebertragung teleangiektatischer Carcinome, welche die häufigste Art des spontanen Mäusekrebses darstellen, sehr oft gelungen ist. Die Impftumoren, welche ich beobachtete, zeigten klinisch und morphologisch fast alle Varietäten epithelialer Neubildungen, obgleich sie von ein und demselben Spontantumor stammten (Adenocarcinom der Mamma). Bald konnte gegenüber der langsamen Entwicklung, dem mangelnden infiltrierenden Wachstum, der Unfähigkeit, zu rezidivieren, der carcinomatöse Charakter der Impftumoren bezweifelt werden. Bald wuchsen sie rapide, infiltrierend und rezidivierend. Bald zeigten sie den Bau der Adenome, bald denjenigen der Alveolarcarcinome. Bald erschienen sie papillär, bald groß cystisch; bald mit derbem, bald mit zartem Stroma. Bald waren die Zellen des Geschwulstparenchyms scharf konturiert, bald in syncytialen Verbänden. Bald überwogen die proliferierenden, bald die nekrotisierenden Prozesse. Einen metastasierenden Impftumor habe ich nur in einem Falle nachgewiesen. Wie auch die einschlägige Literatur lehrt, bleibt das Carcinom der Maus, ob es spontan oder durch Impfung entstanden ist, fast immer eine Lokalerkrankung. Dasselbe erinnert in dieser Beziehung an das Hautcancroid des Menschen.

Carcinomatöse Erkrankungen des lymphatischen Apparates habe ich bei den Mäusen nie beobachtet. Gelegentlich fand ich die regionären Lymphdrüsen im Zustand einfacher Hyperplasie. Da die Krebsmetastasen der Mäuse fast ausschließlich in den Lungen auftreten, so folgt, daß die Krebskeime in der Lymphbahn dieser Tiere ihrer Virulenz entkleidet werden, während die Keime in den seltenen Fällen, wo Metastasierung erfolgt, in der Blutbahn virulent geblieben sind. Demgegenüber gilt in der Menschenpathologie bekanntlich die allgemeine Regel, daß die Carcinomkeime in der Blutbahn, die Sarkomkeime in der Lymphbahn avirulent werden.

Unter allen Organen der Maus zeigt fast ausschließlich die Mamma²⁾ Disposition, spontan carcinomatös zu erkranken. Daher hat die Lehre von der relativen Organimmunität, wie wir sie bei der Trichinose, Coccidiose, der Malaria und anderen Infektionskrankheiten kennen, auch für die Pathogenese des spontanen Mäusekrebses hervorragende Bedeutung.

Die experimentelle Krebsübertragung ist als Transplantation mit Infektion zu deuten, wie ich in meinen Diskussionsbemerkungen nachgewiesen habe (vergl. Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 14. p. 406). Mit Unrecht wurde die Tatsache, daß die Impfcarcinome ebenso wie die spontan entstandenen, aus sich heraus wachsen, gegen die parasitäre Aetiologie des Carcinoms verwertet, da die Morphologie und Pathogenese des Kohlkrebses lehrt, daß es parasitäre Krankheitsherde gibt, die unizentrisch wachsen (vergl. Centralblatt f. Bakteriologie. Bd. XLII. 1906. Heft 6. p. 522 ff.) Im übrigen möchte ich wiederholt bemerken, daß Parasiten von der Klasse des Kohlkrebserregers in den infizierten Zellen als Granula oder als Vakuolen, zwischen den Zellen als große, cystische Körper erscheinen können. Nur im Amöbenstadium besitzen sie die Fähigkeit, Zellen zu infizieren, vorausgesetzt, daß sich die letzteren im embryonalen Zustand befinden. Die Bedingungen,

1) Abhandlungen des Imperial Cancer Research Fund. 1907.

2) Insbesondere ist die Mamma älterer weiblicher Mäuse, ähnlich wie von den mastitischen Erkrankungen, auch vom Carcinom bedroht.

unter denen Parasiten dieser Art Zellparasiten werden, kann der Experimentator nicht willkürlich herbeiführen. Es ist daher bei Tumoren, die sich morphologisch ähnlich wie der Kohlkrebs verhalten, erforderlich, das Zellmaterial der Geschwülste für den Zweck der Uebertragung zu verwerten. Einfachere Verhältnisse bieten die Fibrome dar. Aus diesem Grunde versuchte ich, derartige Neubildungen, ohne Mitübertragung histologischer Elemente, durch Parasiten hervorzurufen.

Den äußeren Anlaß für diese Experimente bot der Befund des *Cysticercus fasciolaris*, den ich nacheinander bei 3 Mäusen einer Zucht erhoben habe. Derselbe schmarotzt in der Mäuse- und Rattenleber, um als *Taenia crassicollis* im Darm der Katze seine Entwicklung zu vollenden. Bei oberflächlicher Betrachtung zeigt er das Bild einer gegliederten Taenie, ist jedoch von dieser dadurch verschieden, daß er des Geschlechtsapparates entbehrt und gelegentlich eine (verschwindend kleine) Schwanzblase zeigt.

In einem Falle bot der genannte *Cysticercus* noch zweifellose Lebenszeichen dar, weshalb er für Versuchszwecke besonders geeignet schien. Ich teilte ihn unter aseptischen Kautelen in 4 annähernd gleiche Teile, um dieselben subkutan am Nacken je einer Maus zu implantieren. 3 von den Versuchstieren, welchen der Kopfteil resp. die mittleren Teile des *Cysticercus* implantiert worden waren, endeten unter den Erscheinungen einer chronisch wirkenden Intoxikation nach 4, 17 bzw. 30 Tagen. Kurz vor ihrem Tode wurden die betreffenden Mäuse mager und träge; auch zeigten sie bei Berührung klonische Zuckungen. Die 4. Maus, welche den Schwanzteil des *Cysticercus fasciolaris* erhalten hatte, bot nach 11 Tagen an der Impfstelle einen halbbohnen-großen Tumor dar, dessen Umfang sich in 40 Tagen verdoppelte. Bei der Exstirpation fand ich in seiner Mitte das implantierte *Cysticercus*-Stück. Dasselbe wurde aus dem Tumor entfernt, einer anderen Maus subkutan am Nacken implantiert und von dieser reaktionslos resorbiert. Nach dem mikroskopischen Befunde stand der experimentell hervorgerufene Tumor histologisch auf der Grenze von Fibrom, Sarkom und Granulationsgeschwulst. Zwischen den Gewebskernen des Tumors lagen ausgewanderte Formelemente — „die Kalkkörper“ — des *Cysticercus fasciolaris*. Die Vermutung, daß eine einfache Fremdkörperwirkung vorlag, ist hinfällig, da die Implantation der anderen *Cysticercus*-Teile nicht mit einem Tumor, sondern mit Intoxikationserscheinungen beantwortet wurde. Die toxischen Wirkungen¹⁾ des *Cysticercus fasciolaris* setze ich in Parallele mit den entzündlichen und gangränösen Prozessen, welche die *Filaria medinensis* hervorruft, wenn ihr Leibesinhalt infolge einer Kontinuitätstrennung in unmittelbare Berührung mit den Geweben ihres Wirtes tritt. Die fibroblastischen Eigenschaften des *Cysticercus fasciolaris* vergleiche ich mit den megaloblastischen des *Bothriocephalus latus*.

Das Interesse, welches die Helminthen, außer ihren Beziehungen zu den Fibromen, für die Geschwulstforschung besitzen, gründet sich auf die neuen Feststellungen von Borrel (Heidelberger Konferenz f. Krebsforschung. 1906.

1) Nach Untersuchungen von Talqvist (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LXI. 1907) ist die Giftwirkung der Helminthen an „Lipoidsubstanzen“ geknüpft. Ich konstatierte dieselben vorzugsweise im Hals und den angrenzenden Teilen des *Cysticercus*-Körpers, während die „Kalkkörper“ auf den Schwanzteil beschränkt sind. — Die „Lipoidsubstanzen“, welche ich insbesondere am *Cysticercus pisiformis* prüfte, zeigten die mikrochemischen Reaktionen der Fettkörper.

Dieser Autor fand in dem Blute einer Krebsmaus Nematoden, in zwei, nicht näher bezeichneten Tumoren der Leber bezw. der Niere je einen *Cysticercus* und in einem Lymphom der Lunge einen völlig entwickelten Helminthen. Borrel urteilt, daß für die natürliche Uebertragung des Krebses auch diese Parasiten in Frage kommen.

Die Spontanheilung der Impfcarcinome, welche ich bei einigen Versuchstieren beobachtete, kann in verschiedener Weise erfolgen. Entweder werden Parenchym und Stroma durch Nekrobiose vernichtet oder das Parenchym durch gewucherte Stromateile ersetzt, so daß ein Fibrom restiert. — Für die eminent geschwulstzerstörende Wirkung des extravaskulären, arteigenen Blutes in den Impfcarcinomen nehme ich im Hinblick auf die erfolgreichen Versuche von Bier¹⁾, bösartige Geschwülste durch Einspritzungen von artfremdem Blut zur Rückbildung zu bringen, außer den mechanischen, auch chemische Momente in Anspruch. In diesem Zusammenhange sei daran erinnert, daß Goldmann²⁾ den Blutgefäßen der malignen Geschwülste Abwehrbedeutung beilegt, weil sonst der Aufwand an Gefäßen, wie ihn selbst minimale Carcinome und Sarkome zeigen, nicht erklärt werden kann.

Nachdruck verboten

Magencarcinom und Milchsäurebacillen (Boas-Opplerscher *Bacillus*, *Bacillus gastrophilus* und *Bacterium gastrophilum* Lehmann-Neumann, *Bacillus acidophilus* und *Bac. bifidus communis*).

Von Dr. A. Rodella.

Mit 6 Figuren.

Obwohl auch bei anderen Erkrankungen das Fehlen freier Salzsäure beobachtet werden kann, so gilt doch dieses Zeichen noch heutzutage als ein maßgebendes Symptom für die Diagnose des Magencarcinoms. Fehlt die Salzsäure im Magen, so ist der Inhalt desselben den verschiedensten Gärungserregern preisgegeben, welche jedoch nur dann ihre Tätigkeit entfalten können, wenn sie die nötige Zeit und die entsprechenden Nährstoffe zum üppigen Gedeihen finden. Nach allgemeiner Erfahrung ist das Vorkommen reichlicher Mengen von Milchsäure entschieden beweiskräftiger für das Vorhandensein eines Magencarcinoms als das Fehlen freier Salzsäure allein. Da die Anwesenheit von Milchsäure nur bei Stauung des Mageninhaltes und Mangel an Salzsäure vorkommt, so kann man natürlich auf Grund des Fehlens von Milchsäure das Vorliegen von Magencarcinom nicht ohne weiteres ausschließen. Andererseits sind Fälle von hypertrophischer Pylorusstenose, Gastritis gravis und perniziöser Anämie mit Magenhypertrophie bekannt, wo es auch zu mehr oder weniger reichlicher Milchsäurebildung kommt.

Aus meiner, allerdings nicht allzu großen Fülle von Mageninhaltsuntersuchungen darf ich jedoch entnehmen, daß in den letztgenannten

1) Bier, A., Beeinflussung bösartiger Geschwülste durch Einspritzung von artfremdem Blut. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 29. p. 1162.)

2) Goldmann, Ueber die Beziehungen des Gefäßsystems zu den malignen Geschwülsten. (Dresdener Naturforscherversammlung. 1907.)

Fällen, falls eine nennenswerte Azidität vorhanden, dieselbe eher von flüchtigen Fettsäuren als von der Milchsäure herrührt, hauptsächlich bei perniziöser Anämie ohne freie Salzsäure habe ich wahrgenommen, daß die dabei vorhandene Säure von flüchtigen Fettsäuren gebildet wird, falls nicht die Bedingungen zu einer andauernden und ausgiebigen Stagnation mit Magenerweiterung vorhanden sind. Immerhin verdient das Vorkommen von Milchsäure im Magen die größte Beachtung, und das Studium der Bedingungen und der Faktoren, welche das Auftreten dieses abnormen Bestandteiles des Mageninhaltes veranlassen, muß als eine sehr dankbare Aufgabe betrachtet werden. Daß die im Magen vorkommende Milchsäure ein Produkt von Gärungen sei, darüber stimmen fast alle Meinungen vollkommen überein. Ob es sich aber dabei um eine durch einen bestimmten Gärungserreger bedingte Gärung handelt, oder ob verschiedene Mikroorganismen bei derselben beteiligt sind, darüber liegen keine sicheren Angaben vor. Von vielen Autoren wird diese Milchsäuregärung mit den sogenannten Boas-Opplerschen Bacillen in Zusammenhang gebracht. Da aber diese Bacillen nach bisherigen Untersuchungen nicht leicht kultivierbar und Carcinomsaft oder Blut als Zusätze zu den gewöhnlichen Nährböden für ihr Gedeihen erforderlich sein sollen, scheint eine Anreicherung derselben, wie sie für das Studium der biochemischen Eigenschaften nötig ist, noch nicht erzielt worden zu sein. Auch bezüglich ihrer Wirksamkeit auf die Kohlehydrate ist nicht viel Bestimmtes ermittelt worden, so daß die systematische Stellung dieser Mikroorganismen sowohl infolge der zahlreichen Abweichungen in den morphologischen Eigenschaften wie auch der Unkenntnis der biochemischen Leistungen noch unsicher ist. Nur Boas drückt sich in bezug auf das Gärungsvermögen der von ihm zuerst aufgefundenen und beschriebenen Bacillen sehr deutlich aus, ohne jedoch dafür weitere Belege anzuführen. Er sagt: „Die Bacillen besitzen die Fähigkeit, Milch zur Gerinnung zu bringen, vor allem aber, aus verschiedenen Zuckerarten Milchsäure zu bilden. Man kann sie demnach mit vollem Recht als die Erreger oder mindestens als einen der Erreger der Milchsäurebildung im Magen bezeichnen.“

Diese Zeilen in dem meisterhaften Werke von Boas¹⁾ stützen sich hauptsächlich auf die jüngst erschienene Arbeit von Sick²⁾. Derselbe weist noch darauf hin, daß die langen Bacillen auch im Mageninhalt von Kranken ohne Magencarcinom und ohne Milchsäurebildung gefunden wurden. Daraus schließt Boas richtig: „Der Milchsäurebildung kommt demnach eine erheblich größere diagnostische Bedeutung zu, als dem Nachweis der Boas-Opplerschen Bacillen.“

Der Nachweis von Milchsäure im Magen ist jedoch mit einer Manipulation verbunden, die wir aus verschiedenen Gründen häufig unterlassen müssen, d. h. mit der Magenausheberung. Wären wir berechtigt, aus dem Auftreten von Milchsäurebacillen im Stuhle auf das Vorhandensein eines Magencarcinoms zu schließen, dann wäre es möglich, auch in den Fällen, wo die Magenausheberung unausführbar ist, diagnostische Schlüsse zu ziehen. Dieser Punkt ist in der Arbeit von R. Schmidt³⁾ ganz richtig hervorgehoben, welcher meint, daß die Vegetationsbilder der Darmflora nicht nur für Magencarcinome, sondern auch für andere Krankheiten des Darmtraktes Aufschluß geben könnten.

1) Diagnostik und Therapie der Magenkrankheiten. II. Teil. p. 265. 5. Aufl. 1907.

2) Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXVI. 1906.

3) Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. XV. 1906.

Diese Meinung von Schmidt habe ich selber seit ungefähr 8 Jahren vertreten, und mein Bestreben war darauf gerichtet, nicht nur die verschiedenen Bakterien des Darmtraktes in ihrem morphologischen Aussehen zu studieren, sondern auch ihre chemischen Wirkungen selbst außerhalb des menschlichen Organismus genauer kennen zu lernen. Bei diesen Untersuchungen kam ich zu Schlußfolgerungen, die allgemeine Bedeutung haben dürften und die in späteren Publikationen niedergelegt werden sollen. In der vorliegenden Mitteilung möchte ich mich ausschließlich mit den Boas-Opplerschen Milchsäurebacillen befassen. Rekapitulieren wir vor allem, was über diese Bacillen bekannt ist.

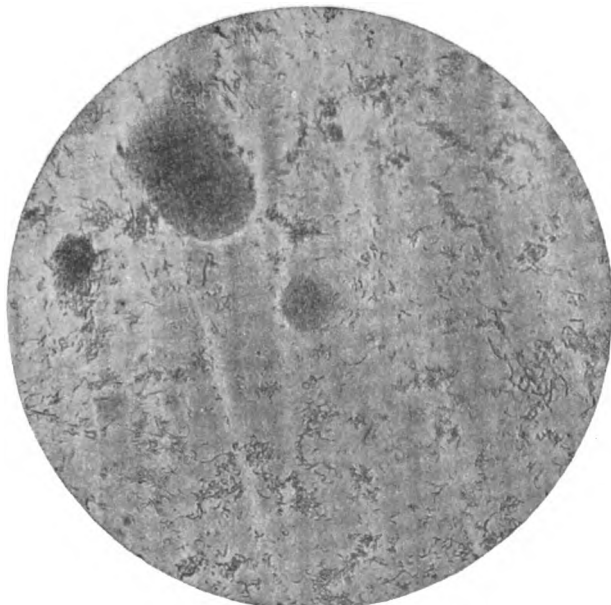


Fig. 1.

Mikroskopisches Aussehen.

6—8 μ lange Stäbchen, deren Länge aber sowohl im Mageninhalt, wie auf den künstlichen Nährböden zwischen 3—10 μ variiert. Ihre Dicke beträgt 1 μ (Fig. 2). Die Bacillen wachsen zuweilen zu langen, verschlungenen, ungliederten Fäden aus (Fig. 3). Strauß und Bialocour fanden durch Färbung mit wässriger Methylenblaulösung in den Stäbchen Körper von ungleicher Größe (Fig. 4), welche den Farbstoff anders annehmen, nämlich intensiv blaurot, und sich hierdurch von den übrigen Bakterienteilen scharf unterscheiden. Strauß und Bialocour fassen diese Gebilde als plasmogene Körper auf.

Eine ähnliche Beobachtung habe ich für meine säurewiderstandsfähigen Bacillen des Säuglingsstuhles gemacht und abgebildet, worauf wir noch einmal zurückkommen werden. Die Boas-Opplerschen Bazillen sind grampositiv, Eigenbewegung und Sporenbildung nicht nachweisbar.

Kulturelle Merkmale.

Genaue Beschreibungen der kulturellen Eigenschaften der Milchsäurebacillen des Magens existieren nicht. Die meisten Autoren geben an,

es sei die Reinzüchtung derselben nicht nur in flüssigen, sondern auch auf festen Nährböden gelungen, sobald sie denselben Carcinom-Mageninhalt, oder Bierwürze, endlich auch Traubenzucker allein zugesetzt hatten. Die Ueberimpfung geschah aber gewöhnlich in flüssige Nährböden. Ueberimpfungen von Agarplatten auf Agarplatten scheinen nicht von Erfolg begleitet gewesen zu sein. Das Aussehen der Kolonien auf den Agarplatten entspricht demjenigen von Fig. 1. Die anderen Autoren bekamen

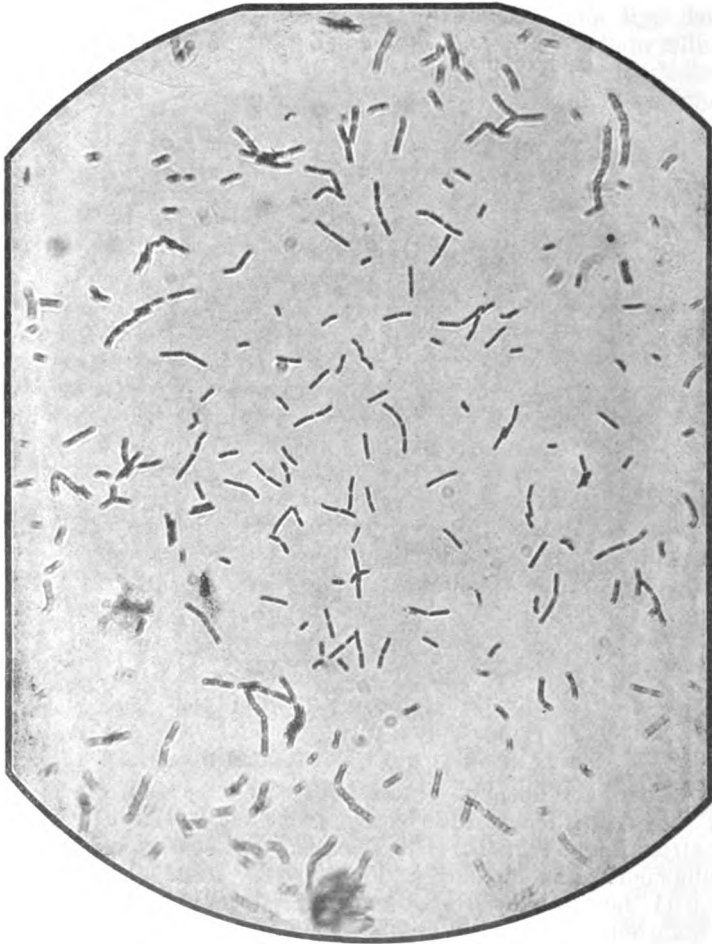


Fig. 2.

die Mischsäurebacillenkolonien auf den Platten nur in Mischkultur, so daß das Wachstum und die Stoffwechselprodukte der Begleitbakterien das Aussehen der Kolonien beeinflusste. Ueberhaupt sollte man annehmen, daß viele Autoren bei der Züchtung dieser Bacillen auf große Schwierigkeiten gestoßen sind. Was das Sauerstoffbedürfnis der in Frage kommenden Bakterien anbelangt, so sagen die meisten Autoren, daß sie nicht zu den obligaten Aëroben gehören, andere behaupten, daß es sich um fakultative Anaëroben handle. Das Temperaturoptimum soll nach einigen Autoren 37° betragen, nach anderen zwischen 40 und 41° liegen.

Biochemische Leistungen.

Darüber liegen, wie oben erwähnt, bis jetzt nur spärliche Erfahrungen vor und sind die einzelnen Untersuchungen nicht zu gleichen Resultaten gekommen. Es steht nicht einmal fest, ob die Milchsäurebacillen als Vergärer von Kohlehydraten oder von Eiweißarten oder gleichzeitig von beiden anzusehen sind. Nach der Mehrzahl der Autoren



Fig. 3.

sollen dieselben fast alle Zuckerarten vergären. Die Gärmethoden, die man verwendet hat, waren eben nicht die geeignetsten zur Lösung dieser Frage. So z. B. benützte Sandberg sterilisierten Carcinommagensaft, welchem dann verschiedene Zuckerarten hinzugefügt wurden. Rohrzucker wurde anscheinend nicht vergoren.

Nach Sick¹⁾ soll die Milchsäurebildung sich eher auf Kosten von Eiweißarten entwickeln, als von Kohlehydraten. Uebrigens erwähnen

1) a. a. O.

Rosenheim und Richter Fälle, wo trotz des Befundes der langen Stäbchen eine regelmäßige Anwesenheit von Milchsäure nicht bestand, oder wenigstens nicht immer nachgewiesen werden konnte. Sandberg weist auf einen Fall aus seinen Beobachtungen hin, wo trotz Anwesenheit einer mäßig großen Anzahl der langen Bacillen längere Zeit hindurch freie Milchsäure nicht festgestellt werden konnte.

Im Jahre 1905 erschien die sehr interessante und fleißige Arbeit von Sick, welcher sich eingehend mit den biologischen Eigenschaften der Milchsäurebacillen beschäftigt. Sick fand, daß die Milchsäurebacillen Glykose, Laktose, Maltose, Rohrzucker und Lävulose vergären, dagegen die Polysaccharide und Glycerin nicht vergären. Sick bemerkt, daß die Milchsäurebacillen unter gewöhnlichen Verhältnissen keinen allzu großen

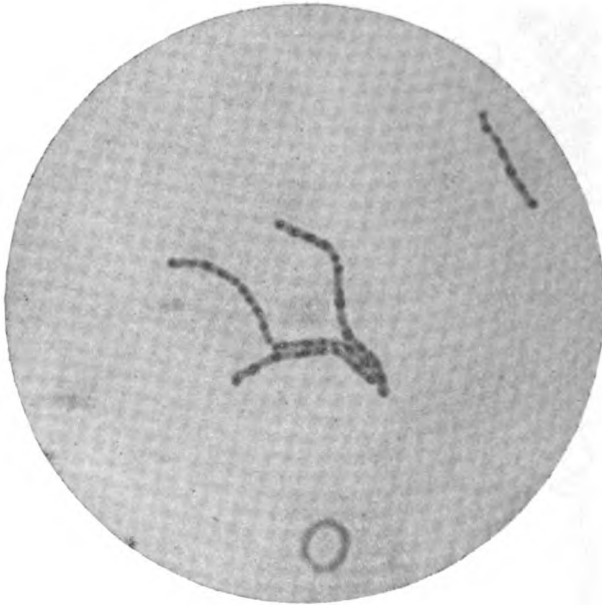


Fig. 4.

Anspruch auf ihren Namen machen könnten, weil sie erstens keine starken Gärungserreger wären, zweitens, weil sie aus der Gärung von Kohlehydraten Milchsäure nur in Spuren, dagegen größere Quantitäten von flüchtigen Fettsäuren bildeten.

Nur bei Hinzufügen von Gewebssäften (Thymus u. s. w.) gelang es Sick, beträchtliche Quantitäten von Milchsäure aus der Gärung von Kohlehydraten zu gewinnen. Sick hat nach einer Erklärung für den auffallenden Einfluß von Zellextrakten auf die Gärungsprozesse der Boasschen Bacillen gesucht.

Der günstige Einfluß des Zusatzes der Zellextrakte zum Nährboden kann nach ihm nicht lediglich auf eine Vermehrung des stickstoffhaltigen Nährmaterials zurückgeführt werden, weil geringe Mengen von Zellextrakten allein genügen, um den gewünschten Erfolg bei der Gärung hervorzurufen und größere Zugaben von Zellextrakten diesen Erfolg gar nicht oder kaum wesentlich steigern.

Die glykolytischen Enzyme konnten von Sick für die Erklärung seiner Versuche nicht herangezogen werden, weil die glykolytischen Enzyme gewöhnlich nicht im stande sind, die Kieselgurfilter zu passieren, während bei den Sickschen Experimenten der wirksame Bestandteil der Eiweißlösungen offenbar die Filter passierte. Deshalb glaubt Sick, die Milchsäuregärung als den primären Effekt des Bakterienstoffwechsels ansehen zu müssen, welcher Stoffwechsel in unbekannter Weise von dem Zusatze des genannten Zellextraktes beeinflusst wird. Wie wir später genau ersehen werden, ist der günstige Einfluß von Organextrakten auf das Gedeihen der Milchsäurebacillen und auf die reichlichere Bildung von Säuren im allgemeinen, und namentlich von Milchsäure, auf denselben Umstand zurückzuführen, welcher das Wachstum und die Gärungstätigkeit der Anaëroben beeinflusst.

Ich habe hier nur die wichtigsten Angaben über die früheren Befunde der Milchsäurebacillen im Magen erwähnt, da für mich kein Anlaß bestand, eine erschöpfende Zusammenstellung der Literatur zu bieten. In der neuesten Auflage von Lehmann-Neumanns „Bakteriologische Diagnostik“ ist unter *Bacillus gastrophilus* (p. 424) und unter *Bacterium gastrophilum* (p. 294) die Rede von den hier in Frage stehenden Mikroorganismen.

Lehmann und Neumann weisen auf die große Unsicherheit und auf die lückenhaften Kenntnisse, die wir darüber besitzen, und auf die Notwendigkeit eines näheren Studiums dieser Frage hin. Wir glauben, durch die vorliegende Arbeit die Frage endgültig gelöst zu haben.

Als ich mich vor einigen Jahren eingehend mit dem Studium der Darmflora des Säuglings befaßte¹⁾, konnte ich mir über zwei darin gefundene Bakterienarten nie vollständige Klarheit verschaffen, nämlich über den *Bacillus acidophilus* (Finkelstein-Moro) und den *Bacillus bifidus communis* (Tissier). Was den *Bacillus acidophilus* betrifft, stellte ich in meinen Untersuchungen vor allem fest, daß er den Namen „*acidophilus*“ keineswegs verdiene, da er gegen Säuren nur eine geringe Widerstandsfähigkeit zeigte, jedoch ebenso gut in alkalischen Nährböden wuchs. Es handelte sich auch bei diesem Mikroorganismus einzig und allein um einen Säurebildner, wie es Hunderte von Mikroorganismen sind. Ferner machte ich damals auf den großen Pleomorphismus dieses *Bacillus* aufmerksam und ich konnte mich über die Zweifel, welche das sehr lange fortgeführte Studium dieses *Bacillus* in mir erweckt hatte, nur auf die Weise hinwegsetzen, daß ich die Vermutung aussprach, es handle sich bei dem *Bacillus acidophilus* um verschiedene Varietäten einer und derselben Art.

Als ich dann mich dem Gebiete der Krankheiten des Verdauungstraktus widmete, bekam ich häufig Gelegenheit, bei Fällen von Magencarcinom und bei anderen Krankheiten des Verdauungskanales sowohl mikroskopische Präparate, wie auch Kulturen von Bacillen zu sehen, welche den von mir damals beschriebenen und abgebildeten Mikroorganismen vollkommen entsprachen.

Die von mir ausgesprochene Ueberzeugung, es handle sich hierbei um einen und denselben Mikroorganismus, wurde bestätigt durch die Einführung der Essigsäurebouillon bei Zuchtungsversuchen von Mageninhalten und Stühlen von an Magenkrebs leidenden Patienten. Dabei stellte sich nicht nur heraus, daß auch die sogenannten Milchsäurebacillen des

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIX. 1901. No. 18. — Ibid. Bd. XXXI. 1902. No. 2/3. — Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX u. XLI.

Carcinoms, ebenso wie die säureliebenden des Stuhles, sehr beträchtlichen Mengen von organischen Säuren widerstehen, sondern es wurde auch damit ein Verfahren gezeigt, welches ermöglicht, die Milchsäurebacillen aus Material von Carcinomkranken ohne viele Beimengungen anderer Mikroorganismen auf die Platten zu bekommen.

Ich verfuhr dabei in der Weise, daß ich das zu untersuchende Material (erbrochener, ausgeheberter Mageninhalt, Stuhl u. s. w.) in reichlicher Menge zu einer Bouillon gab, welche so viel Essigsäure enthielt, die ungefähr einer Azidität von 100 Proz., in $\text{NaOH} \frac{N}{10}$ ausgedrückt, ent-

spricht. Diese Bouillonröhrchen wurden dann ca. 12 Stunden im Brutschrank gelassen und dann mittels einer sterilisierten Pasteurschen Pipette ungefähr 1 cm von dem Bodensatz aufgesogen, welcher dann in 3—4 Zuckeragarplatten verteilt wurde (ungefähr 4—5 Tropfen für je eine Platte)¹⁾. Die so kultivierten Bacillen ließen sich auf Zuckeragar züchten, allerdings nicht sehr leicht, wuchsen dagegen in Gelatine nicht, sie brachten die Milch zur Gerinnung und zeigten auf Blutserum ein kümmerliches Wachstum, ohne den Nährboden zu verflüssigen.

Da jedoch hie und da diese Methode bei der Untersuchung von Stühlen von Carcinomkranken, bei welchen das Vorhandensein von Milchsäurebacillen im Magen nachgewiesen wurde, keine guten Dienste leistete, suchte ich in der anaëroben Technik eine Aushilfe auch für diese Fälle. Ich nahm also sterile Grubersche Röhrchen mit frisch bereiteter 2-proz. Glykose- oder Maltosebouillon, kochte dieselbe sehr lange, direkt an der Flamme vor dem Gebrauch, stellte sodann die Röhrchen in eiskaltes Wasser und impfte sie dann mit dem zu untersuchenden Stuhle. Hierauf machte ich das Vakuum, schmolz die Röhrchen zu und stellte sie dann in den Schrank. Nach 24—48 Stunden öffnete ich vorsichtig die Röhrchen und goß aërobe und anaërobe Platten ab.

Vergleicht man eine Platte, welche nach der üblichen Methode bestrichen wurde, mit einer nach vorangegangener Anreicherung des Materials aus dem Gruberschen Röhrchen, so sieht man einen eklatanten Unterschied: Auf der ersten sind die Kolonien von Milchsäurebacillen äußerst spärlich, dagegen die Coli- und aëroben Kolonien sehr zahlreich. Auf den anderen Platten sind fast ausschließlich Milchsäurebacillen zur Entwicklung gekommen. Man bekam also mit einer Vorkultur des Materials (Mageninhalt oder Stuhl) in einer anaëroben Maltose- oder Glykosebouillon dasselbe Resultat wie mit einer Kultur in Essigsäurebouillon.

Die Wirkung der beiden Methoden ist aber offenbar eine ganz andere. Die Essigsäurebouillon wirkt nur auf die begleitenden Bakterien schädlich, ohne die Milchsäurebacillen in ihrem Wachstum zu fördern. Die anaërobe Anreicherung in Gruberschen Röhrchen wirkt dagegen insofern auf die Begleitbakterien schädlich, als sie das Wachstum der Milchsäurebakterien derart fördert, daß sie in kurzer Zeit alle übrigen Bakterien überwuchern und fast allein zur Entwicklung kommen.

Bei genauer Untersuchung der anaëroben Gruberschen Röhrchen bekam ich aber Gebilde zu sehen, welche dem von Tissier zuerst beschriebenen *Bacillus bifidus communis* vollständig entsprachen. Allerdings waren die verzweigten Formen nur in denjenigen Gruber-

1) Während der Drucklegung der vorliegenden Arbeit erschien in der Münch. med. Wochenschr. No. 22 (2. Juni 1908) eine Mitteilung von Sandberg über die Kultivierung von Milchsäurebacillen aus dem Stuhle. Ich werde bei meinen folgenden Publikationen darauf zurückkommen.

schen Röhrchen vorhanden, welche einige Tage bis einige Wochen im Brutschrank gelassen wurden. Nur derjenige, welcher diese Versuche nachprüfen wird, wird es begreifen können, warum nicht nur ich, sondern auch andere Forscher (Tissier, Moro, Kahn u. s. w.) eine richtige Vorstellung der Acidophilen trotz eingehendsten Studiums nicht gewinnen konnten und warum so vielen namhaften Autoren die Biologie der Milchsäurebacillen trotz jahrzehntelanger Forschungen noch unklar geblieben ist.

Morphologische und biologische Eigenschaften der Milchsäurebacillen.

Den ersten Schritt zur Erkenntnis der morphologischen und biologischen Eigenschaften der Milchsäurebacillen machte ich, als ich zur Isolierung derselben die Methode verwendete, die mir schon bei meinen Untersuchungen auf Anaëroben gute Dienste geleistet hatte, nämlich die Impfung von flüssig gemachtem Zuckeragar in hoher Schicht. Bekanntlich verfährt man dabei in der Weise, daß man einige Zuckeragarröhrchen in kochendem Wasser verflüssigt und, wenn das Wasser eine Temperatur von 45° aufweist, die Röhrchen sehr schnell impft und sie sofort in eiskaltes Wasser stellt. Die erste Impfung, sowie die Verdünnungen des geimpften Materials in den verschiedenen Röhrchen machte ich immer mittels einer sterilen Pasteurschen Pipette.

Ebenfalls ergebnisreich waren die Untersuchungen auf die Widerstandsfähigkeit der Milchsäurebacillen gegen höhere Temperatur. Der Vorgang war hierbei folgender: Ich impfte zuerst mit Reinkulturen aus Agarplatten anaërobe Grubersche Röhrchen, ließ diese 4—5 Tage lang im Brutschranke stehen, überimpfte den Inhalt auf 80° warme Zuckeragarröhrchen, ließ diese 1—2 Minuten in dieser Temperatur und gab sie dann in eiskaltes Wasser. Die Ueberimpfung geschah natürlich auch hier mittels steriler Pasteurscher Pipette, wobei jedesmal 1—2 ccm geimpft wurden. Es kamen auf die Weise diejenigen runden Gebilde zur Entwicklung, die man in den Bakterienleibern der Milchsäurebacillen, welche mit wässriger Methylenblaulösung gefärbt wurden, deutlich zu sehen sind, und die man als Arthrosporen auffassen kann. Es bildeten sich dann in der Tiefe des Agarröhrchens kleine Kolonien, manchmal von wattebauschähnlichem Aussehen, manchmal kompakt, manchmal mehr linsenförmig, manchmal mehr kugelig. Man hätte bei dem verschiedenen Aussehen der Kolonien glauben können, es handle sich hierbei um verschiedene Mikrobienarten. Durch entsprechende Verdünnungen war es aber möglich, Agarröhrchen zu erzielen, in denen nur eine einzige Kolonie zur Entwicklung kam. Sobald ich eine solche bekam, machte ich aus dieser Kolonie Ueberimpfungen in ein Grubersches Zuckerbouillonröhrchen und von da aus auf die verschiedensten Nährböden. Dadurch konnte ich mich überzeugen, daß diese Mikroorganismen, die mir so viele Jahre hindurch durch ihren Pleomorphismus ihr Studium erschwerten, nur eine einzige Art bildeten. Jetzt kann ich getrost auf die vor 6 Jahren von Kahn¹⁾ veröffentlichte Arbeit reflektieren und seine damaligen Behauptungen über meine Befunde und diejenigen von Tissier endlich richtigstellen. Kahn sagt: „Diese anscheinend reinen Kolonien (von *B. bifidus communis*) sind immer Mischkolonien. Verimpft man sie, so wachsen außer *Bifidus* oft Kokken mit *Acidophilus*. Dazu kommt, daß die mit ihm symbiotisch

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXI. 1902.

lebenden Mikroorganismen das Abimpfen augenscheinlich besser ertragen, als der *Bifidus*, denn sie gewinnen bald die Ueberhand und der *Bifidus* verschwindet. Von dieser Schwierigkeit spricht Tissier nicht, er erklärt die Symbiose mit anderen Bakterien, nicht aber, daß das immer der Fall ist. Er behauptet, Mischkolonien von *Bifidus* und *Acidophilus* hätten einen gezähnelten Rand — das ist aber nur dann der Fall, wenn der *Acidophilus* bereits die Ueberhand gewonnen hat. Ich habe Kulturen gehabt, die genau so gewachsen waren, wie Tissier beschreibt, 2 cm unter der Oberfläche einen dichten Ring feinsten Kolonien, mehr in der Tiefe isolierte, größere Kolonien. In den kleinen Kolonien war bei mir stets — mikroskopisch und kulturell nachgewiesen — reiner *Acidophilus*. Ich habe versucht, ihn auf anaëroben Platten nach Schattenfrohs Art und Weise reinzuzüchten, ohne bessere Resultate zu gewinnen.

Die Versuche werden an der Klinik fortgesetzt. Da im übrigen meine mikroskopisch-kulturellen Ergebnisse fast genau mit Tissier übereinstimmen, da er ferner in Fig. 1 auf p. 86 für *Acidophilus* charakteristische Coccobacillen, Ketten und den *Bifidus* zeichnet, so glaube ich auch an der Reinheit seiner Kulturen zweifeln zu dürfen.

Der *Bifidus* kommt im Bruststuhl außerordentlich reichlich vor als zartes Stäbchen von 2–6 μ Länge, wenig leicht gekrümmt mit zugespitztem oder abgerundetem Ende, er hat zwar nicht ganz die regelmäßige Form des *Acidophilus*, ist aber im Nativ-Präparat nicht von ihm zu unterscheiden, erst die Kultur ergibt, daß die blaue Vegetation der Säuglingsstühle — ein Gemisch von *Bifidus* und *Acidophilus* mit wenig anderen Beimengungen, bei Brustkindern überwiegend aus *Bifidus*, bei Flaschenkindern aus *Acidophilus* besteht. Der *Bifidus* färbt sich nach Gram, aber nicht immer gleichmäßig im Verlaufe, oft sind die Endpunkte stärker tingiert und manche Bacillen sind sehr blaß und werden mit Fuchsin sofort überfärbt. Dieses Verhalten ist besonders in älteren Kulturen noch viel prägnanter; da sieht man neben blauen und roten Fäden, auch bei der vorsichtigsten Doppelfärbung, rote und blaue Stellen in einem Faden; oft glaubt man bei einfacher Färbung Kokken vor sich zu haben, und findet erst beim genauen Zusehen, daß diese Kokken stärker tingierte Stellen eines äußerst zarten Bacillus sind. Schon in normalen Bruststühlen, deutlicher in Stühlen bei gemischter Kost, oder Diarrhöen sieht man Auftreibungen im Verlaufe des Bacillus oder an einem Ende, hie und da auch Gabelung eines oder beider Enden. In einem Stuhle bei gemischter Kost fand ich Bifurkationsformen außerordentlich reichlich, dabei waren die Ausläufer sehr zart, wie Schneckenhörner, und zeigten an ihren Enden feinste Faserung. In den Kulturen, besonders älteren, wird das alles vergrößert und vergrößert. Die Bacillen werden länger, bis zu 8–10 μ , die Kolben und Keulen werden häufig und dick (bis zu 2 μ und mehr), die Ausläufer sind fast so dick wie der Bacillus; sie erscheinen nicht nur am Ende, sondern auch im Verlaufe und können sich selbst wieder gabeln. Vielfach sieht man mantelförmige, knieförmig gebogene Bacillen, sehr große Kugeln mit dünnem Stiel, und schließlich in ganz alten Kulturen treten Bläschenformen auf, deren Kontur und Pole allein färbbar sind, überhaupt nimmt die Tingierbarkeit mit dem Alter der Kulturen ab, am längsten behalten im allgemeinen die Bifurkationsstellen und die Verdickungen die Farbe.

Er ist anaërob immobil, stirbt nach Erwärmen auf 60° ab, wächst

bei 20°, aber sehr schlecht, besser bei Körpertemperatur, verimpfbar ist eine Kultur noch nach 4 Wochen.

In tiefem Zuckeragar sieht man nach zwei Tagen feine weißliche Pünktchen, die in nicht zu dichten Kulturen dicker werden, linsenförmig dann nach allen Seiten auswachsen und nach etwa acht Tagen in 2 bis 5 durcheinander gewachsene Scheiben ausgehen. Der Rand dieser Scheiben ist immer glatt. Alte Kulturen können einen Durchmesser von 2—3 cm haben. In Zuckerbouillon wächst er gut, sie wird nach zwei Tagen trübe und zeigt bald einen weißlichen, fadenziehenden Niederschlag; fast ebenso gut wächst er in Bierwürze, wo der Bodensatz und der Wandbeschlag mehr körnig ist. In beiden Medien wächst er nur gut bei Luftabschluß, im anderen Falle sieht man keine Trübung oder Niederschlag und findet nur ganz vereinzelte Bacillen.“

Ich habe mir erlaubt, von der Arbeit Kahns so ausführlichen Gebrauch zu machen, weil dieselbe doch eine Rekapitulierung der Frage ist, welche wir bald im Zusammenhang mit unseren Milchsäurebacillen des Magencarcinoms behandeln werden. Es sei hier noch besonders hervorgehoben, daß auch bei der Erforschung der Bakterienflora des Säuglingsstuhles die meisten Autoren schon bei den ersten Untersuchungen in den harmlosen grampositiven Bacillen des Säuglingsdarmes und besonders in den *Acidophilus*-Arten bereits den Erreger dieser oder jener Kindererkrankung entdeckt haben wollten und Tierversuche vorgenommen hatten, mit dem Versprechen, bald eingehender über die gewonnenen Ergebnisse in der Aetiologie der genannten Erkrankungen zu berichten. Berichte, welche natürlicherweise bis jetzt auf sich haben warten lassen, da wir vor allem erst über die physiologische Bedeutung der Darmbakterien ins Klare kommen müssen.

Mit der oben erwähnten Methode, d. h. durch Anwendung der Gruberschen Röhrchen, konnten wir vor allem konstatieren, daß die Milchsäurebacillen des Magencarcinoms eine Widerstandsfähigkeit gegen höhere Temperatur besitzen, welche die gewöhnlichen sporenfreien Bakterien nicht zeigen; Sporen konnten wir in unseren Kulturen färberisch nicht nachweisen. Dagegen kennen wir keine andere Bakterienart, bei welcher sich Gebilde, wie die sogenannten Babes-Ernstschen Körperchen (Arthrosporen, Polkörner) so leicht darstellen ließen, wie die Milchsäurebacillen. Die Bacillen werden blau gefärbt, die Körner rot bis dunkelrot. Daß ein Zusammenhang zwischen diesen Gebilden und der Hitzewiderstandsfähigkeit der in Rede stehenden Bacillen besteht, glauben wir ohne weiteres annehmen zu müssen. Auf die Frage der Plasmolyse und auf die neuen Ansichten von Arthur Meyer-Marburg über dieselbe einzugehen, ist meines Erachtens hier nicht der geeignete Ort.

Ich habe aber davon um so mehr Erwähnung getan, weil dadurch die Angaben von Kaufmann und Strauß¹⁾, daß die Milchsäurebacillen eine sporenbildende Mikrobianart seien, gewissermaßen eine Erklärung finden. Auf den Umstand, daß *Bacillus acidophilus* schöne Polkörner zeige, habe ich schon im Jahre 1901 aufmerksam gemacht, und eine Abbildung derselben ist in der meiner Arbeit beigelegten Tafel zu sehen. Wie ich bereits gesagt habe, und wie es weiter unten noch deutlicher sich ergeben wird, sind *Bacillus acidophilus* und Milchsäurebacillus identisch.

Die Verwendung der Gruberschen Röhrchen ermöglichte mir, auch eine andere Eigenschaft der Milchsäurebacillen kennen zu lernen, welche

1) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXVIII. 1895.

von größtem Interesse war. Ich züchtete nämlich die Milchsäurebacillen in Gruberschen Röhrchen, welche den von Passini und Achalmé verwendeten Nährboden, d. h. Eiereiweiß ohne Kohlehydrate enthielten. In diesem Nährboden fiel mir sofort das Auftreten von Gebilden auf, welche denjenigen von *Bacillus bifidus communis* (Tissier) vollkommen entsprachen (Fig. 6).

Ich verfolgte diese Erscheinung mit um so lebhafterem Interesse, weil ich in meiner ersten Arbeit bei *Bacillus acidophilus* Verzweigungen beschrieben hatte, während die anderen Autoren dies nicht bestätigen konnten. In dem Passini-Achalmé'schen Nährboden gelang es mir nicht nur, meine damaligen Befunde wieder zu erheben (was auch in dem anderen Nährboden geschah), sondern auch andere ganz eigenartige Verzweigungen zu konstatieren, welche zum Teil als Degenerationsformen aufgefaßt werden können. Und es kamen nicht nur diese Verzweigungen zum Vorschein, sondern auch jene Formen, welche zuerst Tissier in seiner Monographie beschrieben hat. Um mich hier also kurz zu fassen, verweise ich den Leser auf das Werk von Tissier, da die darin enthaltenen Beschreibungen mit meinen jetzigen Befunden übereinstimmen.

Die Untersuchung dieser Kulturen brachte aber auch andere Befunde zu Tage, die nicht ohne Bedeutung sind. Wurden in der Tat die Gruberschen Röhrchen, welche den Eiereiweiß-Nährboden enthielten, mit Milchsäurebacillen reichlich geimpft, so bildete sich in denselben eine Gärung des Eiweißes, wodurch Milchsäure in ziemlich großer Menge entstand. Die gesamte Azidität, in $\text{NaOH} \frac{\text{N}}{10}$ ausgedrückt, erreichte gewöhnlich einen Grad von 20—30 Proz., manchmal konnte sie bis 50 Proz. steigen. Das Eiweiß war nicht stark, immerhin etwas angegriffen. Das Filtrat gab oft die Biuretreaktion.

Obwohl die Vergärung der Eiweißkörper durch die Milchsäurebacillen eine höchst geringe ist, so erscheint doch die dabei stattfindende Bildung von Milchsäure nicht ohne Interesse. Vergleichen wir die vorliegenden Erfahrungen mit den von Sick gemachten, so müssen wir seine Befunde bestätigen. Wir können aber dafür eine plausible Erklärung geben als diejenige, die in den Worten Sicks enthalten ist und die darauf hindeutet, daß „die Milchsäuregärung als Primäreffekt des Bakterienstoffwechsels anzusehen ist“. Sick meint, „daß der Zusatz zum Nährboden von Zellextrakten nicht durch Vermehrung des stickstoffhaltigen Materials von Einfluß sein kann, weil die Gärungsprodukte zu dem Eiweißgehalt des Nährbodens nicht in proportionalen Verhältnissen stehen“. Diese Auffassung ist nicht mehr stichhaltig, da aus unseren Versuchen hervorgeht, daß in einem Nährboden, wo keine Kohlehydrate und nur Eiweißkörper enthalten sind, auf Kosten dieser letzteren Milchsäure gebildet wird. Aus dem gleichen Grunde fällt auch die Annahme weg, daß der Zusatz von Eiweißstoffen durch die in denselben enthaltenen glykolytischen Enzyme das Wachstum und die Lebens- und Gärungsbedingungen der Milchsäurebacillen beeinflussen kann. Die Eiweißstoffe verhalten sich zu den Milchsäurebacillen nicht wie glykolytische enzymhaltige Substanzen, sondern wie Zuckerarten selbst.

Zu dem Verhalten von Bacillen gegenüber verschiedenen Zuckerarten habe ich vor kurzem einen Beitrag geliefert¹⁾. Was die Milchsäurebacillen anbetrifft, so bilden dieselben, wie ich es in meiner Arbeit über den

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. XVII. 1906.

Bacillus acidophilus bereits angeführt hatte und wie später Sick es bestätigen konnte, in Milch aus Milchzucker hauptsächlich flüchtige Fettsäuren, durch welche die Milch dann zur Gerinnung gebracht wird. Warum es in der Milch durch diese Bacillen nicht zu einer ausgesprochenen Milchsäuregärung kommt, das ist nicht leicht zu sagen. Auch aus den anderen Kohlehydraten bilden die Milchsäurebacillen insbesondere unter anaëroben Verhältnissen vorwiegend flüchtige Fettsäuren.

Einige Worte möchte ich noch über die morphologischen Eigenschaften der Boas-Opplerschen Bacillen anführen. Dieselben, in Essigsäurebouillon kultiviert, lassen die kolbigen Anschwellungen an einem Ende (höchst selten an beiden), die ich im Jahre 1901 bei meinem *Bacillus acidophilus* beschrieben hatte, erkennen. Sie besitzen die Eigenschaft, in dem genannten Nährboden (was ich auch schon damals

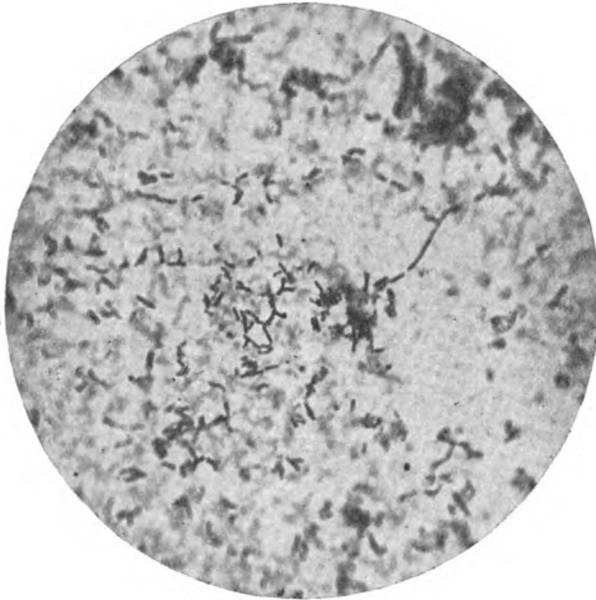


Fig. 5.

angegeben und abgebildet hatte), zu langen Scheinfäden zu wachsen, und mit Methylenblau gefärbt, jene Körper im Bakterienleibe erkennen zu lassen, die ich damals als Protoplasmaschollen bezeichnet habe (Fig. 4). Diese Protoplasmaschollen haben die Neigung, aus dem Bakterienleib auszutreten. Echte Verzweigungen kommen hauptsächlich in flüssigen Medien (Fig. 5), übrigens auch auf festen Nährböden vor. Häufig sind die Milchsäurebacillen winkelig gebogen, und hie und da macht die kolbige Anschwellung am Ende des Bacillus einen Winkel, so daß sich das Aussehen mit der Form einer Krücke vergleichen ließe. In dem Passinischen Nährboden unter strengen anaëroben Bedingungen zeigen die Bacillen, wenn die Kultur einige Wochen alt ist, die bizarrsten Formen (Fig. 6). Sie spalten sich an beiden Enden, so daß sie bald die Form eines ausgebuchteten X annehmen, bald die eines geraden X, an dessen Stiele noch kleinere Ansätze bemerkbar sind. Die morphologischen und kulturellen Merkmale des *Bacillus acidophilus*, des

Bacillus bifidus communis und der Milchsäurebacillen sind identisch. Man kann also nur von einer Art sprechen und die Annahme

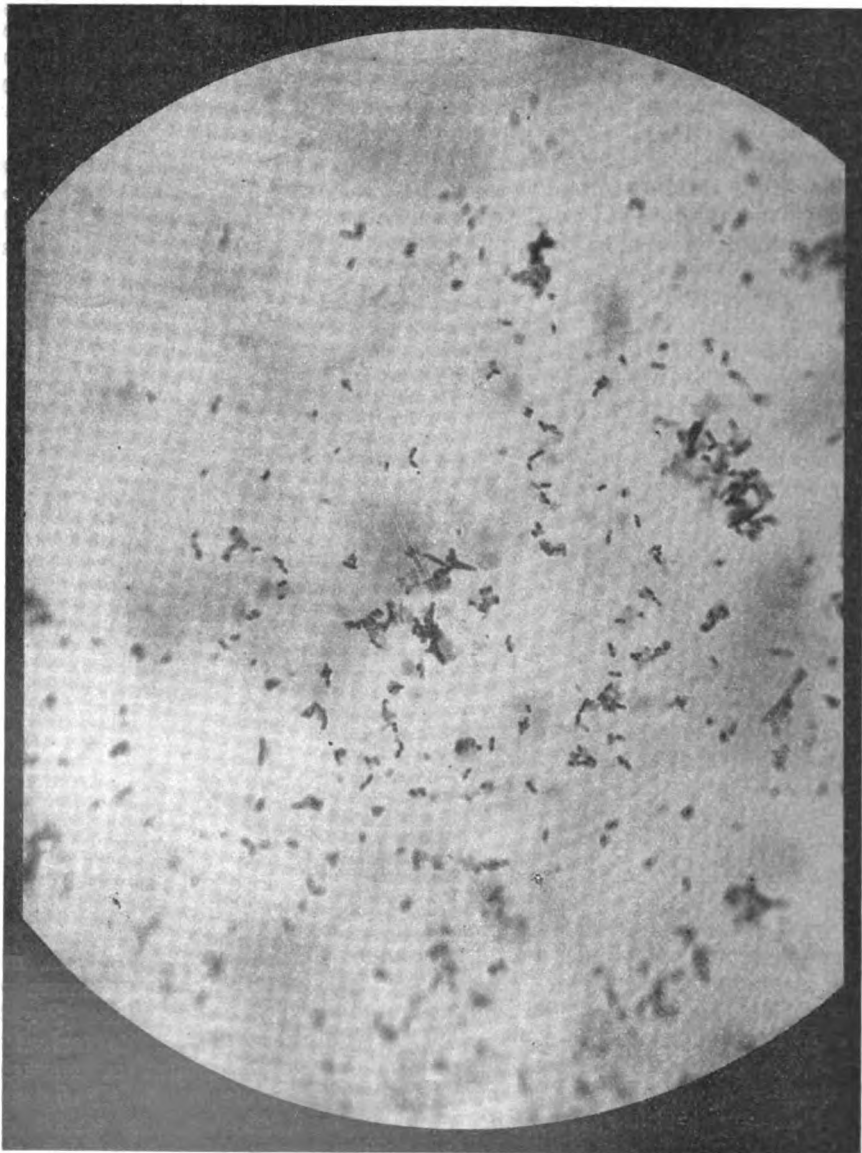


Fig. 6.

von Kahn, daß sowohl Tissier wie ich mit unreinen Kulturen gearbeitet haben, ist nicht berechtigt.

Die Ubiquität dieses *Bacillus* würde zwar gegen die von manchen Autoren angenommene Spezifität sprechen und seine engen Beziehungen zu dem Magencarcinom sehr zweifelhaft erscheinen lassen, wir aber wollen

seine diagnostische Bedeutung im großen und ganzen aufrecht erhalten, aus Gründen, die wir im folgenden kennen lernen werden.

Diagnostische Bedeutung der Milchsäurebacillen im Magen und im Stuhle.

Vorliegende Mitteilung bildet das Bindeglied zwischen unseren bereits erwähnten Untersuchungen über den Säuglingsstuhl und denjenigen, welche wir über anaerobe Mundbakterien angestellt haben¹⁾.

Daß diese Untersuchungsreihe noch lange nicht abgeschlossen ist, brauchen wir nicht zu sagen. Wir waren und sind immer noch der festesten Ueberzeugung, daß die bakteriologische Untersuchung des Stuhles am Krankenbette ebenso unerläßlich ist und ebenso viele wichtige diagnostische Winke ergeben wird, als das bei den Harnuntersuchungen bereits der Fall ist. Bevor wir aber mit unseren Kenntnissen über die Darmflora so weit kommen, muß ein langer Weg gemacht werden, der nur von denjenigen eingeschlagen werden darf, die sich mit verschiedenen Gärungsprozessen und mit den verschiedensten Gärungsregnern befaßt haben. Wenn aber nur diejenigen ans Werk gehen, die an eine scharfe Trennung zwischen medizinischer und technischer Bakteriologie glauben, die nur auf die spezifischen Krankheitserreger Wert legen und alles übrige verachten, was mit den harmlosen Saprophyten zu tun hat, dann können wir auf diesem so wichtigen Gebiete keine großen Fortschritte erwarten. Was für eine Bedeutung soll eine Arbeit über anaerobe Mundbakterien haben, sobald sich dieselbe nur mit pathogenen Bakterien beschäftigt, müßten nicht vielmehr alle Mikroorganismen des Verdauungstraktes genaue Berücksichtigung finden?

Indem ich mir eine ausführliche Beantwortung dieser Frage vorbehalte, möchte ich hier nur ein paar Beispiele anführen, welche zeigen dürften, wie wichtig die Kenntnis der häufigsten Bilder des normalen bakteriologischen Stuhles ist.

Es kam ein Patient zur Untersuchung, der sich in einem sehr schwerkranken Zustande befand. 2 Tage darauf exitus. Anamnestisch war nur zu ermitteln, daß der Patient kurz vor seinem komatösen Zustande Blut erbrochen hatte. Die mikroskopische Untersuchung der Faeces ergab sehr viele verzweigte Bacillen, wie ich sie bei *Acidophilus* abgebildet habe (Verzweigung an einem Ende oder im Verlaufe des Stäbchens), auch verschiedene X-Formen, wie sie Tissier für seinen *Bacillus bifidus communis* abgebildet hat. Ferner massenhaft sporentragende Bacillen mit und ohne granulose Einlagerung. Einige waren vom Typus meines *Anaerobium I*, andere waren schöne Clostridien, wie sie in den Lehrbüchern als charakteristisch für Buttersäurebacillen beschrieben werden. Obwohl dieser Stuhlbefund allein keine Diagnose ermöglichen konnte, so hatte man einen Anhaltspunkt für die Annahme einer Lebererkrankung. Die verzweigten Bacillen, welche im Stuhle vorhanden waren, bewiesen nicht nur eine stattgefundene Milchsäuregärung im Magen und Darne, sondern ließen auch daran denken, daß ihre Entwicklung durch die Lebersekretion gar nicht beeinträchtigt worden und in einem sauren Medium erfolgt war. In der Tat wissen wir, daß die verzweigten Formen die Begleiterscheinungen einer Gärung sind, welche unter anaeroben Verhältnissen und in saurer Umgebung stattfindet. Die Obduktion ergab das Vorhandensein von vielen Varizen am Oesophagus, welche die Blutung veranlaßt hatten, ferner das Bestehen einer Lebercirrhose hochgradiger Natur.

Ein anderer Fall: Bei einem an Magencarcinom mit zahlreichen Metastasen in der Leber leidenden Manne bestand auch eine Kanalisationsstörung des Darmes infolge Kompression. Obwohl hier die Diagnose der Lebererkrankung ohne weiteres zu stellen war, so bestätigte doch die Stuhluntersuchung dieselbe insofern, als sehr viele verzweigte Formen, die wie *Bacillus bifidus* aussahen, zu finden waren. Die übrige gram-positive Flora bestand auch hier aus den obengenannten sporentragenden Arten.

Wir wollen nun zu unseren Milchsäurebacillen zurückkehren. Warum zeigt der Milchsäurebacillus ein so verschiedenartiges Aussehen? Warum

1) Arch. f. Hygiene. Bd. LIII. 1905.

nimmt er in Fällen von Darmstenosen, insbesondere bei komplizierender Leberinsuffizienz das Aussehen des *Bacterium bifidum* an? Warum wächst er hie und da im Magen zu langen Scheinfäden aus?

Der Milchsäurebacillus von Boas ist unter aëroben Verhältnissen ein ziemlich kurzes grampositives Stäbchen, wie man ihn auf den aëroben Agarplatten sehen kann. Ist aber das Medium, worin er wächst, stark sauer, dann hat der Bacillus die Neigung, zu langen Fäden auszuwachsen, dabei büßt er aber, falls die Säuremenge eine sehr große ist, seine Gramfestigkeit zum Teil ein. Man sieht dann oft Bacillen, die mit der Gramschen Methode sich zum Teil rot, zum Teil blau färben.

Im Magen sind durch das stetige Hinzukommen von atmosphärischer Luft keine strengen anaëroben Bedingungen geschaffen, und deshalb kommen nur in Ausnahmefällen verzweigte Formen zum Vorschein. Die Anaërobiose wird, wie bereits erwähnt, durch exulzierende Carcinome sehr stark begünstigt, da die frischen Zellsäfte das Wachstum der Anaëroben fördern, jedoch sind in der Regel diese Verhältnisse für die Bildung verzweigter Formen nicht ausreichend. Haben die Milchsäurebacillen den Pylorus passiert, so entscheiden über ihre Formen und ihr Schicksal hauptsächlich die Darmverhältnisse, welche zum Teil vom Zustande der Darmschleimhaut und der Darmsekretion und -resorption, von der Beschaffenheit des Pankreas und der Leber abhängig sind. Ist z. B. die Leber insuffizient, die Galleausscheidung vermindert, ihre Beschaffenheit stark verändert, dann kommen schöne Verzweigungen zum Vorschein, falls die Bedingungen zu einer andauernden Anaërobiose, wie z. B. Darmstenosen, Obstipation, Parese der Darmmuskulatur etc. vorhanden sind. Ist die Verdauung von Seite des Darmes normal, so daß dieselbe ohne Hilfe der Bakterien vor sich geht, dann erscheinen die Milchsäurebacillen in der Form von kurzen Stäbchen, wie man sie auf den aëroben Platten sieht.

Ungefähr dieselben Verhältnisse haben wir bei der Magen-Darmflora des Säuglings. Die ausschließliche Ernährung des Brustkindes mit Milch schafft die günstige Bedingung zur Entwicklung einer Milchsäuregärung und einer Milchsäurebacillenflora. Im Darme des Säuglings sind die Reduktionsvorgänge der Galle nicht so ausgesprochen wie bei Erwachsenen. Die raschere Passage der Faeces durch den Darmkanal des Säuglings läßt die Antagonisten der Milchsäurebildner nicht oder nur in geringer Menge aufkommen, und die Milchsäure kann im Darme nicht neutralisiert werden. Es ist auch daran zu denken, daß beim Säugling der Magen kein so großes Luftreservoir bildet wie der Magen des Erwachsenen.

Die Milchsäurebacillen nehmen unter anaëroben Darmverhältnissen die lange Form von Scheinfäden an (*Bacillus acidophilus*), oder die verzweigte Form (*Bacillus bifidus*). Ist bei Säuglingen, was wir wiederholt konstatieren konnten, die Galleausscheidung aus irgend einem Grunde vermehrt oder vermindert, dann treten auch im Säuglingsstuhle jene anaëroben Formen auf, die bei Erwachsenen zu sehen sind. Hauptsächlich ist dann mein pathogenes Anaërobium I vertreten.

Zum leichteren Ueberblick über die Bedeutung der Milchsäurebacillen im Magen seien hier die Verhältnisse der Flora des Verdauungstraktes bei Erwachsenen ganz kurz skizziert.

Wie wir zuerst nachgewiesen haben, befindet sich im Munde neben einer aëroben auch eine sehr mannigfaltige anaërobe Flora, die erst bei günstigen Bedingungen zur Entwicklung kommt. Gelangen aber die anaëroben Arten an Stellen, wo anaërobe Verhältnisse vorliegen (wie z. B.

kariöse Zähne, Pulpitisfälle etc.), so sind gerade die Anaëroben diejenigen, welche die Pulpa angreifen und die tote Substanz durch die Trypsinbildung vergären und auflösen. Ähnliche Verhältnisse liegen in Fällen von tiefen Geschwüren der Mundhöhle (wie z. B. bei Noma etc.) vor.

Kommt die Mundflora in einen Magen, welcher sich unter normalen sekretorischen und motorischen Bedingungen befindet, so findet keine nennenswerte bakterielle Entwicklung statt.

Ist der Salzsäuregehalt des Magens stark vermindert oder vollständig aufgehoben, die Motilität aber erhalten, so passiert die Mundflora fast unverändert den Pylorus und entwickelt sich erst im Darme entsprechend den Verhältnissen der Darmdrüsen. Da die Mundflora bei mangelndem Salzsäuregehalt des Magens unbeeinträchtigt bleibt, so gibt sie ihre übermäßige Entwicklung im Darme insofern kund, daß, falls die Bauchdrüsen-säfte nicht entgegenwirken, eine Neigung zum Abführen besteht. Die rasche und kopiöse Entwicklung der Bakterien reizt den Darm und bedingt die häufigere Entleerung. Es ist in der Tat bekannt, daß Hyperchloridie Neigung zur Verstopfung, Hypochloridie Abführen hervorruft.

Ist der Chemismus des Magens normal, seine motorische Tätigkeit durch Atonie, Stenosen, Adhäsionen usw. herabgesetzt, dann sind die Bedingungen für das Zustandekommen einer Gärung gegeben, nämlich das längere Verweilen der Speisen im Magen selbst, die starke Verdünnung der Salzsäure, die verminderte Resorptionsfähigkeit der Magenschleimhaut usw. Daß kolossale Unterschiede zwischen einer einfachen Atonie und einer hochgradigen Pylorusstenose mit Erweiterung eventuell auch Senkung des Magens bestehen, liegt auf der Hand.

Wie verlaufen in diesen Fällen die Magengärungen?

Mikroskopische und bakteriologische Befunde darüber liegen in der Literatur massenhaft vor, die Bedingungen aber, unter welchen diese Gärungen vor sich gehen, habe ich nirgends finden können. Diese sind jedoch sehr einfach und ergeben sich hauptsächlich aus den schon lange in technischen Gewerben gemachten Erfahrungen und zum Teil auch aus den schönen Arbeiten Efferonts. Efferont hat bekanntlich eine Methode gefunden, um aus einem Gärmaterial, welches eine mannigfache Flora enthielt, nur die wichtigsten Blastomyceten aufkommen zu lassen. Die Methode, die sich in der Praxis schon lange eingebürgert hat, besteht in der Anwendung von Fluorsäure, welche die anderen Bacillen unterdrückt und die Hefen allein aufkommen läßt. Ich selbst habe mich mit diesem Gegenstand beschäftigt¹⁾.

Analog wie die Fluorsäure wirkt auch die Salzsäure des Magens. Diese Säure übt auf die meisten Bakterien einen hemmenden Einfluß aus und fördert nur das Wachstum von Sarcinen und Hefen; deshalb ist auch der Befund von Sarcinen bei gutartigen Magenstenosen mit reichlicher freier Salzsäure so häufig.

Die Efferontsche Methode ist ausgedacht worden, hauptsächlich um die so allgemein verbreiteten Milchsäurebacillen zu unterdrücken. In der Tat sehen wir gewöhnlich im Magen mit freier Salzsäure keine Milchsäuregärung stattfinden.

Es kommt natürlich noch ein weiteres Moment in Betracht, nämlich, ob die Pepsinverdauung im Magen in solchen Fällen normal, herabgesetzt, oder völlig fehlend ist. Es ist selbstverständlich nicht gleichgültig für den Gärungsprozeß, ob die Peptone, welche für die Ernährung der

1) Le fermentazioni alcooliche ad alto temperatura. Padova (P. Minotti) 1906.

Bakterien so wichtig sind, durch die Magentätigkeit verschafft werden oder nicht. Es ist bekannt, daß unter den Eiweißstoffen die Peptone und Amide auf die Virulenz (im technischen Sinne) der Sarcinen gleichmäßig einwirken, die Peptone für die Vermehrung sehr günstig wirken. Schütteln des Zuchtgefäßes begünstigt ebenfalls die Entwicklung der Sarcinen im hohen Grade, was man mit dem bekannten Plätschern oder Schwappen des Magens bei hochgradigen Ptosen und Ektasien dieses Organs in Vergleich bringen kann.

Ebenso ist gar nicht gleichgültig, ob eventuell Trypsin in Fällen von Duodenalstenosen in den Mageninhalt regurgitieren kann. Unter solchen Verhältnissen würde das Trypsin tiefgreifende Eiweißgärungen, wie diejenigen, welche von den Anäroben hervorgerufen werden, einleiten. Diese anaeroben Bakterien können dann im Magen selbst jene tiefgreifenden Eiweißzersetzungen hervorrufen, die sonst im Dickdarme gelegentlich vorkommen und von der Bildung von H_2S , Merkaptan, Grubengas u. s. w. begleitet werden. Es könnte auf diese Weise auch zum Auftreten von flüchtigen Fettsäuren kommen, ein Umstand, auf welchen wir bereits hingewiesen haben, welcher aber in allen Lehrbüchern über Physiobakteriologie des Magens vergeblich gesucht wird. Man bespricht eigentlich gewöhnlich nur die Bildung von flüchtigen Fettsäuren aus den Kohlehydraten.

Fehlt im Magen die freie Salzsäure völlig, so sind die günstigsten Bedingungen gegeben, für die Entwicklung jener Milchsäuregärung, die sich bei höherer Temperatur entwickelt und deren Erreger unter dem Namen von langstäbchenförmigen Milchsäurebacillen bekannt sind.

Es war ein großes Verdienst des Wiener Professors Franz Lafar, den *Bacillus acidificans longissimus* in die Brennerei eingeführt und die Milchsäuregärung einem eingehenderen Studium unterworfen zu haben. In einer jüngst erschienenen Arbeit von Guido Koestler¹⁾, betitelt: „Der Einfluß des Luftsauerstoffes auf die Gärbarkeit typischer Milchsäurebacillen“, finden sich viele wichtige Bemerkungen auch für die Frage der Milchsäuregärung im Magen, auf die wir leider hier nicht eingehen können.

In den Brennereien kommen zwei Methoden in Betracht, um eine intensive Hefengärung ohne Beimengung von fremden Bakterien zu erzielen. Die eine, welche in Frankreich und an manchen Orten Italiens üblich ist, ist die bereits erwähnte Effrontsche Methode. Die andere, welche in Deutschland verwendet wird, besteht darin, daß man der alkoholischen Gärung eine intensivere Milchsäuregärung vorausgehen läßt. Um dieselbe zustandezubringen, braucht man bekanntlich nur die Gärbottiche auf höhere Temperatur (45°) zu stellen, wobei das zu vergärende Material eine neutrale oder schwach alkalische Reaktion aufweist.

Ähnliche Verhältnisse haben wir, wie man sieht, auch im Magen, obwohl hier die Temperatur etwas niedriger ist. Man darf jedoch nicht annehmen, daß Spuren von freier Salzsäure die Milchsäuregärung vollkommen ausschließen können, da Spuren von freier Salzsäure von den Milchsäurebacillen vertragen werden. Wir haben bereits erwähnt, daß, wenn freie Salzsäure in einem gärenden Magen vorhanden ist, neben Sarcinen auch Hefen zur Entwicklung kommen. Die freie Salzsäure hätte also ungefähr dieselbe Rolle, wie die Fluorsäure in der Industrie.

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1907.

Findet aber eine starke Milchsäuregärung im Magen statt, so entwickeln sich die Hefen gleich oder noch stärker als im folgenden Falle. Ich spreche von Hefen im allgemeinen, obwohl manche im Magen vorkommende Varietäten eher zu den *Torula*-Arten gerechnet werden müssen. Der Befund von Hefen im Magen ist also nur als Beweis einer Gärung zu verwerten, sonst kann man demselben keine Bedeutung zuschreiben, weil ihr Wachstum sowohl von Milchsäure als von Salzsäure begünstigt wird. Dagegen ist der Befund von Sarcinen wichtiger, da dieselben der Milchsäure gegenüber viel empfindlicher sind.

Wir haben hier kurz die Vorgänge der Magengärungen geschildert und es fragt sich nun, wie sich diese Gärungserreger verhalten, wenn sie einmal in den Darm gelangen? Wenn eine Milchsäuregärung im Magen stattgefunden hat und die Bauchorgane normal funktionieren, so zeichnet sich das mikroskopische Bild des Stuhles durch die Vermehrung der grampositiven Flora, falls die Verhältnisse im Darne ganz normal sind, inbezug auf Motalität und Chemismus aus. Dieser Stuhl erinnert etwas an denjenigen von Flaschenkindern. Besteht aber ein Dickarmkatarrh mit mangelnder Resorption der Eiweißstoffe, so daß dieselben im Darne weiteren Gärungen freigegeben werden, ist die Leber insuffizient oder Sitz eines Neoplasmas, so erscheinen im Stuhle dicke, plumpe anaërobe Stäbchen, und es ist, wie oben erwähnt, mein pathogenes Anaërobium I schwer zu vermissen. Der Stuhl ist durch die von Anaëroben gebildeten Fettsäuren sauer reagierend. Falls kein Antagonismus zwischen Milchsäuregärung und den übrigen Darmgärungen besteht, dann treten, wenn gleichzeitig eine Darmstenose vorliegt oder Obstipation oder andere sonstige Kanalisationsstörungen vorhanden sind, sehr schöne Verzweigungen bei den Milchsäurebacillen auf. Kommt der Mageninhalt eines an einer benignen Magenstenose und Ektasie Leidenden in den Darm, so zeichnet sich der Stuhl durch eine größere Mannigfaltigkeit der Flora aus, welche auch Sarcinen, Blastomyceten, Soorarten, oft auch andere Hyphomyceten enthalten kann. Dieses sind, kurz skizziert, die Vorgänge bei Magen- und Darmkrankheiten. Näheres über einzelne klinische Bilder werden wir anderswo Gelegenheit haben zu berichten.

Schlußbemerkungen.

Die aëroben und anaëroben Mundbakterien gelangen in den Magen und rufen, falls sie dort längere Zeit verweilen, Gärungsprozesse hervor, die vom Aziditätsgrade, der Qualität der Säure, der Quantität und Qualität der nichtorganisierten Fermente abhängig sind. Im allgemeinen läßt sich sagen, daß anorganische Säuren, in erster Linie die Salzsäure, die Hefegärung, das Wachstum von Sarcinen und die Entwicklung höherer Mikroorganismen, z. B. Soorarten, insoferne begünstigen, als sie das Aufkommen anderer Mikroorganismen, z. B. *Bacterium coli*, erschweren oder ganz unmöglich machen.

Die Bildung von Eiweißabbauprodukten durch das Magenpepsin gestattet in Fällen von Stagnation auch denjenigen Mikroorganismen Gärungserscheinungen hervorzurufen, die sonst auf das Vorhandensein von Peptonen angewiesen sind.

In ähnlicher Weise übt Ptyalin auf Kohlehydrate seine Wirkung je nach dem Gehalte an Salzsäure aus, und es hängen die Magengärungen davon ab, wie tief die Ptyalinwirkung auf Kohlehydrate reichen kann.

Bei Magencarcinom bestehen gewöhnlich die günstigsten Bedingungen für das Auftreten einer Milchsäuregärung: Fehlen freier Salzsäure,

Stagnation des Mageninhaltes, leichte Vergärbarkeit der Kohlehydrate durch die tiefere Wirkung des Ptyalins auf dieselben, endlich entsprechende Verhältnisse des Luftsauerstoffes für die Gärtätigkeit der Milchsäurebacillen.

Diese letztere Bedingung ist hauptsächlich auf die bekannte Ausscheidung von nativem Eiweiß an der Geschwulstoberfläche zurückzuführen, worauf auch die bekannte Salomonsche Probe beruht.

Das native Eiweiß, das im Carcinommagen stets fließt, wirkt in zweifacher Weise auf das Gedeihen der Milchsäurebacillen: Erstens sind diese Mikroorganismen, wie wir bewiesen haben, imstande, die Ketongruppe der Eiweißkörper zu vergären und daraus Milchsäure zu bilden, zweitens verhält sich das native Eiweiß wie ein reduzierender Körper in einem Nährmedium (Grassberger, Schattenfroh, v. Hibler, Tarozzi u. s. w.).

Es kommen hier natürlich auch die Motilitätsverhältnisse des Magens sehr in Betracht. Bei Magencarcinom ist sowohl durch die perigastrischen Adhäsionen als auch wegen der Verdickung der Magenwand eine stetige Beimengung atmosphärischer Luft, wie dies bei Ektasien benigner Natur der Fall ist, ganz unmöglich.

Deshalb kommen bei Carcinoma ventriculi anaerobe Bacillen leicht zur Entwicklung, wie wir dies in 2 von unseren 8 Untersuchungen konstatieren konnten. Es waren in diesen 2 Fällen Anaeroben von der Art von *Granulobacillus mobilis non liquefaciens* vorhanden.

Reduzierende Körper, z. B. Schwefelammonium, Schwefelleber u. s. w., die ebenfalls zur Begünstigung der anaeroben Verhältnisse empfohlen wurden, waren gegen unser Erwarten von schädigenden Einflüsse auf Milchsäurebacillen.

In Reinkultur kommen die Milchsäurebacillen im Magen nur höchst selten vor (wir sahen dies nur in einem Falle), sonst gilt die Regel, daß auch Begleitbakterien, hauptsächlich Hefe und *Torula*-Arten, sich bemerkbar machen, auch die von Weiss¹⁾ als vierte Bakterienart beschriebenen sind sehr oft anwesend. Häufig findet man *Bacterium lactis aërogenes*, das sich dann auch an der Milchsäuregärung beteiligt. Durch Kultivieren des Mageninhaltes bei 45° im Eijkmannschen Kolben läßt sich dieses Bakterium am leichtesten isolieren.

Was die systematische Stellung der Milchsäurebacillen des Magencarcinoms anlangt, so gehören sie zu den langstäbchenförmigen Formen. Sie dürften mit dem *Bacterium casei* (v. Freudenreichs) eine einzige Art bilden²⁾.

Die Identifizierung und Vereinigung von 3 Mikroorganismen, die früher als verschiedene Arten gegolten hatten, nämlich *Bacillus Boas-Oppler*, *Bacillus acidophilus* (Finkelstein-Moro) und *Bacillus bifidus communis* ist jedenfalls keine unmotiviert, da kein einziges Merkmal existiert, welches eine Trennung gestattet; dagegen alle morphologischen und kulturellen Charakteristika vollkommen übereinstimmen.

Auffallend erscheint mir, daß die vielen Autoren, die sich mit dem

1) Centralblatt für Bakt. I. Abt.

2) Ob der Name „Milchsäurebacillus“ gut gewählt ist, möchten wir bezweifeln. Lehmann-Neumanns Klassifikation folgend sollte man von „Milchsäurebakterium“ sprechen, da sichere Sporen färberisch nicht nachgewiesen werden konnten. Allerdings sind ältere Kulturen ziemlich resistent gegen Hitze, so daß nach 3-minütigem Erwärmen auf 80° noch lebende Bacillen sich finden. Vielleicht verhalten sich die in Fig. 4 abgebildeten Körner, welche auch die Neigung haben, aus dem Bakterienleib auszutreten, wie echte Sporen.

Studium des *Bac. acidophilus* beschäftigt haben, meine Angaben über Verzweigungen desselben nicht bestätigen konnten. Um diese Sache aufzuklären, bemühte ich mich, aus verschiedenen Quellen Stammkulturen zu erhalten, was mir leider nicht gelungen ist. *Bifidus*-Kulturen verschiedenster Provenienz konnte ich öfters untersuchen — sie stimmten mit meinen *Acidophilus*-Kulturen völlig überein. Ich muß jedenfalls meine Behauptung aufrecht erhalten, daß *Bac. acidophilus* unter anaëroben Bedingungen ebensolche Verzweigungen bildet wie der *Bac. bifidus communis* (Tissier), und darin kann also ein Unterscheidungsmerkmal nicht bestehen.

Für den Kliniker ist die Frage der Verzweigung in zweifacher Beziehung wichtig, sowohl für die Diagnose einer stattgehabten Milchsäuregärung im Magen, als auch eventuell für die Annahme einer erschwerten Kanalisation des Darmtraktes.

Wie in frischen aëroben Kulturen konnte ich auch im Mageninhalt von Carcinomkranken niemals Verzweigungen konstatieren¹⁾. Dagegen fand ich sie sehr häufig im Stuhle, vornehmlich, wenn dieser angehalten ist, sei es durch Stenose, sei es durch motorische Insuffizienz des Darmes, da dann die notwendigen Bedingungen der Anaërobie vorliegen.

Die verzweigten Bacillen des Stuhles Erwachsener haben eine größere Bedeutung als bei Säuglingen. Bei letzteren gilt das Auftreten von Verzweigungen als Charakteristikum eines normalen Stuhles, beim Erwachsenen sprechen die Verzweigungen für einen krankhaften Zustand des Magen-darmtraktes. Natürlich gilt dies nur für ein reichliches Auftreten von verzweigten Bacillen (4—6 im Gesichtsfeld).

Begünstigend für das Auftreten von verzweigten Formen wirken jene tiefen anaëroben Gärungen, die bei Acholie vor sich gehen. Diese streng anaëroben Bacillen scheinen sowohl durch die Bildung einer sauerstoffreichen Atmosphäre wie durch ihre Symbiose die Bedingungen zur reichlichen Verzweigung der Milchsäurebacillen anzugeben. Da aber in diesen Fällen die streng anaërobe Flora wegen ihres reichen Gehaltes an pathogenen Mikroorganismen großes praktisches und theoretisches Interesse beansprucht, tritt die Frage der Verzweigungen der Milchsäurebacillen hier in den Hintergrund. Auf dieses Thema wollen wir in einer nächsten Mitteilung zurückkommen.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. 24-stündige Zuckeragarplatte. Das ursprüngliche Material (Mageninhalt eines an *Carcinoma ventriculi* leidenden Patienten) wurde 12 Stunden lang in Essigsäurebouillon bei 37° bebrütet und sodann mittels Pasteurscher Pipette auf die Platte ausgestrichen. Die Platte stellt eine Reinkultur dar.

Die großen Kolonien bestehen aus einem Gewirr von dünnen Fäden, sind mit feiner geschlängelten Ausläufern versehen, so daß sie gewissermaßen ein medusaartiges Aussehen darbieten.

Die kleinen unregelmäßigen faserigen Streifen, Punkte u. s. w., welche auf der Platte dick nebeneinander liegen, sind ebenfalls Kolonien von Milchsäurebacillen des Magencarcinoms. Vergr. 50-fach.

Fig. 2. Milchsäurebacillen des Magencarcinoms aus einer 24-stündigen Zuckerbouillonkultur-Färbung nach Gram. 1000-fache Vergr.

Fig. 3. Milchsäurebacillen des Magencarcinoms aus einer 48-stündigen Essigsäurebouillonkultur-Färbung nach Gram. 1000-fache Vergr. (Es ist hier zu bemerken, daß hier und da auch im direkten Ausstrichpräparat von Carcinom-Mageninhalt Knäule und Geflechte von langen Fäden zu sehen sind.)

1) Dank des sehr reichlichen Materials, welches mir zur Verfügung stand, ist es mir gelungen, während der Drucklegung der vorliegenden Arbeit bei einem Falle von Magencarcinom schöne verzweigte Milchsäurebacillen nachzuweisen.

Fig. 4. Milchsäurebacillen von Magencarcinom aus einer dreitägigen Essigsäurebouillonkultur-Färbung mit Löfflerscher Methylenblaulösung. Die Bacillen sind blaßblau gefärbt, die runden Gebilde im Bacillenleibe zeigen eine rote Farbe. 1000-fache Vergr.

Fig. 5. 6-tägige anaerobe Zuckerbouillonkultur. Die gegabelten Formen zeichnen sich durch die gleichmäßige Länge ihrer Aeste aus. (Solche Formen kommen hier und da auch im direkten Ausstrichpräparate von carcinomatösem Mageninhalt zur Beobachtung. 1000-fache Vergr.

Fig. 6. 6-tägige anaerobe Eiereiweißkultur von Milchsäurebacillen des Magencarcinoms (Grubersche Röhrchen). Die Bacillen sind mit einem spitzigen, dornartigen Fortsatz versehen. Gramsche Färbung. 1000-fache Vergr.

Die Mikrophotographien Fig. 2 und 3 verdanke ich der großen Liebesswürdigkeit von Herrn Prof. Dr. Grassberger-Wien. Die übrigen Photographien sind von Herrn Photographen Hinterberger-Wien ausgeführt worden.

Bei den sämtlichen Photographien ist jegliche Retouche vermieden worden.

Nachdruck verboten.

Ein Fall von Febris recurrens.

Von Dr. Sophokles J. Anastasiades, Smyrna.

Mit 1 Figur.

In dem vorliegenden Falle handelt es sich um die Erkrankung eines Privatpatienten, den ich in der Stadt zu beobachten Gelegenheit hatte, und der, wie mir scheint, allgemeineres Interesse zu beanspruchen verdient.

Griesinger nimmt Febris recurrens nur als epidemisch vorkommend an, und nach ihm sollte man nicht erwarten können, einem sporadischen Fall unter gewöhnlichen Verhältnissen zu begegnen.

Mein Fall hat also ein doppeltes Interesse: Einmal wegen der ungewöhnlichen Art seiner Entstehung, sodann weil er das ausgesprochene klinische Bild der Erkrankung bietet.

In der Stadt und Provinz Smyrna hat, soviel mir bekannt, nie eine Rekurrensepandemie geherrscht. Es wäre also nicht unmöglich, daß sporadische Fälle vorgekommen sind, die von den Aerzten für Malaria gehalten und als solche behandelt sind. Ein derartiger Irrtum ist ja leicht, wenn die Blutuntersuchung versäumt wird; denn ich kann nicht annehmen, daß nur ich nicht gestochen sein sollte. Auch in den letzten 5 Jahren, in denen ich im Krankenhaus wie in der Untersuchung vornahm, habe. Deshalb halte ich den „ersten sporadischen Fall von Febris recurrens in Smyrna“ zu bezeichnen.

Beiläufig bemerkt, sind keine Erkrankungen an Malaria, auch in Athen, bekannt. Es wird zwar, daß Rothlauf in Athen spricht, sonst aber nicht. Auch Dr. Sisma ausgezeichnet beschrieben bis dahin nie in Griechenland.

1) ὁ ἀσθενὴς τὸν χρόνον ἢ 37, 42.)

ihm keiner der nach der Befreiung Griechenlands (1828) tätigen Aerzte etwas über das Vorkommen von Rekurrensfieber veröffentlicht. Ein Exemplar von Rothlaufs Arbeit konnte ich leider nicht erhalten.

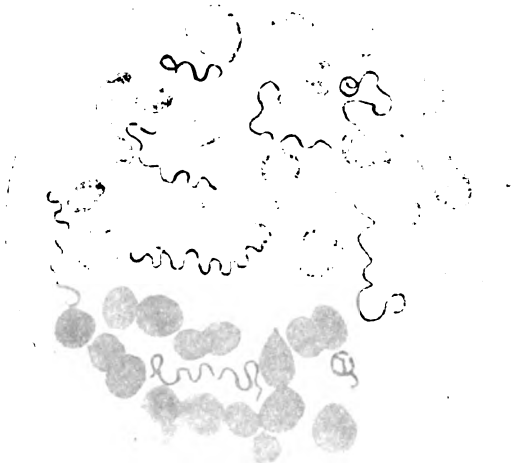
Der Militärarzt Sismanis hat im Lazarett innerhalb 6 Monaten 16 Fälle (Soldaten) behandelt, die sämtlich leicht verliefen. Gleichzeitig wurden auch in der Zivilbevölkerung mehrere Fälle festgestellt, die wahrscheinlich aus der Umgebung in die Stadt eingeschleppt waren. Sismanis meint, daß eine Epidemie schon im Frühjahr desselben Jahres unter den Kretensern herrschte, die wegen des Aufstandes in ihrer Heimat nach Griechenland geflüchtet waren. Wenn ich nicht irre, fällt dies zeitlich mit dem russisch-türkischen Kriege zusammen.

So viel über das Vorkommen von Rekurrens in Griechenland. Seitdem sind weder dort noch auf den Inseln des Archipels Fälle beobachtet worden. Ein Zusammenhang zwischen der Erkrankung unseres aus Mytilene stammenden Patienten und einem irgendwo in seiner Heimat vorhandenen Infektionsherd ist also nicht festzustellen. Smyrna wird oft von russischen Pilgern, die nur kurze Zeit in der Stadt bleiben, aufgesucht; diese wie auch die Matrosen der russischen Dampfer werden bei vorkommenden Erkrankungen im griechischen Hospital verpflegt; doch haben wir bis jetzt keine einzige Rekurrensfiebererkrankung unter ihnen feststellen können.

Unser Patient wohnte in einer Arbeiterherberge (Tuer Risa-Han) im „Bazar der Fleischer“; er arbeitete als Diener in einem Restaurant beim Geflügelmarkt. In seiner Wohnung erkrankte keiner seiner Kameraden, weder vor noch nach ihm. Woher kam also die Infektion? Kann man an eine primäre Ernährungsinfektion denken, auf die auch die gastrischen Erscheinungen, wie sie beim Beginn der Krankheit auftraten, zurückzuführen wären?

Aus dem beigegefügtten Blutpräparat ist ersichtlich, daß es sich um Spirochaete Obermeieri handelt. Wenn ich auch auf den Vermehrungsmodus dieses Parasiten hier nicht näher eingehen kann, glaube ich doch annehmen zu müssen, daß die von Koch zuerst bei den Spirochäten des afrikanischen Rekurrens beobachtete Querteilung bei einigen meiner Präparate deutlich zum Ausdruck kommt. Bei manchen der Parasiten ist diese Querteilung an verschiedenen Stellen des Protoplasmas als Rosenkranz sichtbar, der den größten Teil des Fadens oder sogar die ganze Länge einnimmt, als ob es sich um einen degenerativen Prozeß handelte. Die Länge der Spirochäte schwankt zwischen 10–20–22 μ , Form und Zahl der Windungen ebenfalls.

Bei unserem Patienten, der in einer Malariagegend lebte und zu



einer Jahreszeit erkrankte, wo Malariaerkrankungen bei uns an der Tagesordnung sind, zeigen, wie gesagt, die Spirochäten vollkommen die Form der Obermeierschen und keineswegs die der abnorm kleinen S-förmigen Spirillen, die Karliński in Malariagegenden beobachtet hat.

Ein Blick auf die Temperaturkurve läßt ebenfalls den reinsten Typus von Rekurrenzfieber erkennen. Der Abfall des Fiebers ist am 10. Tage nach dem ersten Fieberanfall erfolgt; er dauerte 36 Stunden; dann trat Genesung ein. Am 25. Tage konnte der Patient geheilt aus dem Krankenhaus entlassen werden.

Nachstehend folgt die genaue Krankheitsgeschichte.

Juni 1906. Menelaus E. aus Mytilene, 19 Jahre alt, kam vor 1 Jahre aus seiner Heimat nach Smyrna und arbeitete als Diener in einem Wirtshause, wo er bis Mitternacht tätig war. Sein Schlafzimmer, in einer Herberge, teilte er mit anderen Arbeitern. Bis zum heutigen Tage war er gesund; auch seine Schlafkameraden waren weder vor ihm noch gleichzeitig erkrankt. Bis zum Abend des 7. Juni ging er seiner Beschäftigung nach; am Mittag dieses Tages hatte er mit gewohntem Appetit gespeist, ohne sich irgendwie schlecht zu fühlen. Erst in den späteren Abendstunden machten sich mäßiges Schwindelgefühl und allgemeine Abgeschlagenheit bemerkbar; er versah trotzdem zunächst seine Arbeit weiter, obwohl die Mattigkeit zunahm und ihn häufig kalte Schauer überrieselten, bis die Beschwerden sich um die genannte Zeit so steigerten, daß er nach Hause gehen mußte. Unterwegs stellte sich Brechneigung und Schüttelfrost ein, die auch im Bett fortbestanden. Während der Nacht traten häufigere Schüttelfröste mit nachfolgendem starken Hitzegefühl, Kopfschmerzen, Schmerzen in den Lenden und in allen Gliedern, besonders den unteren Extremitäten, auf. Patient verbrachte die Nacht schlaflos und sehr unruhig; das Durstgefühl war sehr stark. Beim Aufrichten im Bett steigerten sich die stechenden Kopfschmerzen.

Am folgenden Morgen (8. Juni) besuchte ich den Pat. zum ersten Mal. Die Kreuz- und Gliederschmerzen sind angeblich stärker, die stechenden Kopfschmerzen, die beim Erheben des Kopfes von unerträglichem Schwindelgefühl begleitet sind, werden als „reißend“ bezeichnet. Abdomen etwas meteoristisch aufgetrieben, Stuhl angehalten, Urin normal, Milz und Leber nicht vergrößert, Zunge weiß belegt, absolute Appetitlosigkeit, Brechreiz, starkes Durstgefühl. Respiration etwas beschleunigt (28–30mal in der Minute), mühelos. Tiefste Inspiration ruft keine Schmerzen oder Hustenreiz hervor. Herztöne rein. Atemgeräusch über der ganzen Lunge rein vesikulär. Temp. 40° C, Puls 110–114.

Durch Einstich in die Fingerkuppe wird ein wenig Blut zu Ausstrichpräparaten entnommen.

Nachm.: Temp. 40,5°; Puls beschleunigt, regelmäßig. Pat. hatte nach dem Vormittagsbesuche versucht, aufzustehen, mußte sich jedoch sehr bald wieder hinlegen, da er sich zu unsicher auf den Füßen fühlte und auch Kopfschmerzen und Mattigkeit zu stark waren. Schlaf durch Träume gestört. Urin normal, Stuhl einmal erfolgt, konsistent.

Am Morgen des 9. Juni ist der Kranke bei vollkommen klarem Bewußtsein. Die Nacht hatte er schlaflos verbracht mit wechselndem Frösteln und starkem Hitzegefühl. Der Durst war stark. Die Schmerzen in den oberen und unteren Extremitäten haben etwas nachgelassen, sind jedoch im Kopf und Kreuz stärker geworden (vielleicht durch das eingenommene Aspirin). Schwindelgefühl geringer, desgleichen die Magenbeschwerden, so daß er eine kleine Menge Milch zu sich nehmen konnte. Milzdämpfung vergrößert. Zunge trocken. Beide Konjunktiven injiziert. Kein Husten; Respiration beschleunigt. Haut heiß und trocken, kein Ausschlag. Temp. 40° C, Puls 130.

Die Untersuchung der nach Giemsa gefärbten Blutpräparate ergab eine große Menge gut gefärbter Spirochaetae Obermeieri.

Nachm.: Pat. gibt an, bis gegen Mittag gemäß Verordnung zu Bett gelegen zu haben. Da er aber glaubte, etwas genießen zu können, habe er sich von seinen Zimmergenossen etwas Bouillon von Fisch geben lassen, jedoch nach wenigen Löffeln das Essen stehen lassen, weil es ihm zu schlecht schmeckte; er habe dann Limonade und Tee gegen den Durst zu sich genommen.

Auf meinen Vorschlag willigt er ein, am nächsten Morgen sich in das Krankenhaus aufnehmen zu lassen.

In der Nacht war Pat. aufgestanden und hatte sich unter freiem Himmel niedergelegt, weil er davon Besserung der ihn quälenden Unruhe erwartete; er blieb bis zum Morgen liegen, bis anhaltender starker Schüttelfrost ihn zwang, das Bett wieder aufzusuchen. Um 9 Uhr Vorm. erschien er im Krankenhaus, nachdem er die kurze Strecke

von seiner Wohnung unsicher schwankend zu Fuß zurückgelegt hatte. Er wurde mit anderen Kranken in ein gemeinsames Zimmer gelegt.

10. Juni Vorm.: Gesichtsausdruck sehr abgespannt. Pat. kann heute ohne Schwindelgefühl stehen. Zunge trocken, Gesichtsfarbe bleich, doch nicht wie bei Malaria. Temp. 39,6° C, Puls 126. Die abermalige Blutuntersuchung läßt eine große Menge Spirochäten von fast gleichem Aussehen wie beim ersten Mal erkennen. In einigen Fäden war deutliche Querteilung, wie sie Koch beschrieben hat, zu sehen.

Nachm.: Temp. 40,5° C, Puls 120. Bei Bewegungen steigt die Pulszahl. Gesichtsausdruck weniger leidend, Gemütsstimmung zufrieden. Es werden Klagen über Kopfschmerzen, die beim Aufsitzen stärker werden, und Schwindelgefühl geäußert. Gliederschmerzen im allgemeinen geringer, doch sollen Schulter- und Ellenbogengelenke, besonders bei Bewegungen, schmerzhaft sein. Aeußerlich ist an diesen Stellen nichts festzustellen, doch werden schon bei mäßigem Druck Schmerzen geäußert. Erheben der Arme kann nur unter Anstrengungen erfolgen. Zunge etwas feuchter.

Ein Exanthem ist weder auf der äußeren Haut noch auf den Schleimhäuten sichtbar. Abdomen mäßig meteoristisch aufgetrieben und druckempfindlich. Leber in allen Dimensionen vergrößert, insbesondere der linke Lappen; im ganzen druckempfindlich; Oberfläche glatt. Milzdämpfung vergrößert, Milz wegen Spannung der Bauchdecken nicht genau palpabel. Linkes Hypochondrium auch ohne Druck empfindlich. Herzdämpfung regelrecht, ebenso die Herztöne; doch klingt der erste Ton etwas unrein. An den hinteren unteren Partien des Thorax leichte Schallabschwächung in handbreiter Ausdehnung, besonders rechts. In den untersten Lungenabschnitten sind vereinzelte Rhonchi sibilantes hörbar. Ich erkläre mir dies aus dem Druck, den die vergrößerte Milz und Leber auf die Lunge ausüben. Der Urin enthält Spuren von Eiweiß. In den Blutpräparaten finden sich zahlreiche Spirochäten, die schöne Giemsa-Färbung aufweisen. Neben ausgestreckten, regelmäßig gewundenen Formen sind in Gestalt wie Größe veränderte Fäden zu erkennen; manche sind S- oder kreisförmig mit einer Schlinge. Bei einigen ist eine deutliche achromatische Abschnürung (Querteilung) sichtbar, die zuweilen zweimal die Achse des Fadens durchtrennt. An einem Ende einer Spirochäte glaube ich eine Franse gesehen zu haben. Das frische Blutpräparat läßt an einigen Stellen eine eigentümliche Bewegung der roten Blutkörperchen erkennen, die gleichsam von einer äußeren Macht bewegt zu werden scheinen; doch ist diese Bewegung eine andere, wie man sie bei Malariaflagellaten sieht. Daß es Spirillen sind, die diese Bewegung hervorrufen, ist unschwer zu erkennen; doch konnte ich, da die eigentliche Bewegung sehr schnell und unregelmäßig erfolgt, kaum einige Windungen deutlich sehen.

11. Juni. Pat. hat gestern Abend die ihm gereichte Milch erbrochen. Schlaf während der Nacht ungestört. Urinmenge im Vergleich zu den vorhergehenden Tagen heute bedeutend geringer. Deutliche Vermehrung der Spirochäten.

Vorm.: Temp. 39,6° C, Puls 124.

Nachm.: Temp. 40,5° C, Puls 130.

12. Juni. Trotz geringerer allgemeiner Beschwerden und Gliederschmerzen ist Pat. die Nacht sehr unruhig gewesen. Der linke Arm kann ohne Schmerzen bewegt werden. Beim Aufrichten verspürt Pat. noch etwas Schwindelgefühl, doch weniger als früher. Kopfschmerzen geringer. Bis auf den verstärkten 1. Ton an der Herzspitze findet sich am Herzen nichts Regelwidriges. Milz- und Leberschwellung bestehen fort, ebenso die Beschleunigung der Atmung und des Pulses, zumal bei Bewegungen. Die Spirochäten nehmen heute die Giemsa-Färbung weniger stark an.

Vorm.: Temp. 39,4° C, Puls 116.

Nachm.: Temp. 39,7° C, Puls 120.

13. Juni. Bis zum Morgen hat Pat. die Nacht schlaflos und sehr unruhig verbracht; keine Delirien. Vor Mitternacht erfolgten zwei diarrhäische Stühle; seitdem keine Urinentleerung.

Während um 7 $\frac{1}{2}$ Uhr vorm. das Thermometer noch 39,7° C zeigte, sank die Temperatur um 9 Uhr vorm. plötzlich auf 36,9° C, Puls 70, ab; Pat. schwitzte dabei ein wenig; subjektives Befinden sehr gut; er hat das Bedürfnis nach Ruhe und schläft viel. Schmerzen im Kopf und den Gliedern haben nachgelassen.

Auffällig erschien mir folgendes:

Läßt man den Kranken auf der Bettkante mit aus dem Bett hängenden Beinen sich aufrichten, so vermag er Beuge- und Streckbewegungen des Kopfes unbehindert auszuführen; beim aufrechten Sitzen im Bett traten spontane Beugebewegungen beider Hüft- und Kniegelenke auf, ähnlich wie beim Kernig'schen Symptom; in dieser Stellung konnten die oben genannten Bewegungen des Kopfes nicht vollständig ausgeführt werden, vielmehr zeigte sich ein mäßiger Grad von Opisthotonus. Die Pupillen reagierten normal, Patellarreflexe und Babinsky waren nicht auszulösen.

In den während des Temperaturabfalles entnommenen Blutpräparaten waren Spirochäten nicht nachzuweisen. Auffallend war mir das Vorhandensein einiger freier Körperchen von $\frac{1}{6}$ des Durchmessers der roten Blutkörperchen, welche helle Blaufärbung annahmen. In einigen von ihnen fand sich an der Peripherie ein sehr kleiner roter Punkt, der von einer hellen Zone umgeben war; bei anderen wieder war die Peripherie granuliert mit kleinen schwarzblauen Körnchen. Die Blutplättchen waren größer wie im normalen Zustande; manche hatten einen Durchmesser von $\frac{1}{4}$ der Blutkörperchen. Im allgemeinen waren die Blutscheiben hämoglobinar. Die Zahl der Leukocyten war vermehrt, neutrophile Zellen waren zahlreich, eosinophile vereinzelt vorhanden. Urinmenge vom 12. Juni 400 g, Urin enthält Spuren von Eiweiß; nach der Ansäuerung fallen beim vorsichtigen Zusetzen eines einzigen Tropfens einer wässrigen Arg.-nitr.-Lösung (1:10) keine kompakten Klumpen von Chlorsilber aus, es bildet sich vielmehr eine wenig intensive gleichmäßige Trübung. Das aus dem Zentrifugat hergestellte mikroskopische Präparat enthält einige Erythrocyten, vereinzelt Lymphocyten, Blasen- und Nierenepithelien, außerdem eine gut nach Giemsa gefärbte Spirille und verschiedene sarcinenähnliche Gebilde, sowie Diplokokken und Bakterienhaufen in großer Menge.

14.—16. Juni. Subjektives Befinden sehr gut. Pat. scheint kaum zu glauben, daß ein Rückfall eintreten könnte.

22. Juni. Pat. ist außer Bett. Appetit vermehrt. Milz und Leberschwellung haben in der Zeit der Fieberlosigkeit kaum an Größe abgenommen und sind heute noch kaum erheblich verändert gegen den Befund bei den ersten Untersuchungen zur Zeit des Fiebers.

Nachdem Pat. 9 Tage völlig fieberfrei gewesen ist, hat er heute Nachmittag einen $\frac{1}{2}$ -stündigen intensiven Schüttelfrost, verbunden mit hohem Fieber, Schwindelgefühl, Kopf- und Gliederschmerzen. In der Nacht große Unruhe, wenig Schlaf. Im allgemeinen sind jedoch die Erscheinungen geringer wie beim ersten Anfall; sie währten 36 Stunden. Die Zahl der Spirochäten ist weniger groß wie das erste Mal.

Nach diesem Fieberanfall bleibt Pat. in den folgenden Tagen vollkommen wohl und fieberfrei. Der Appetit wird bald besser; Pat. verlangt reichliche Nahrung. Die Kräfte nehmen schnell zu.

Pat. wird am 28. Tage seit Beginn der Krankheit, am 25. Tage seit seinem Eintritt in das Krankenhaus, geheilt entlassen.

Eine Erkrankung der in demselben Zimmer untergebrachten Kranken oder des Pflegepersonals erfolgte nicht weiter; auch sind Neuerkrankungen weder im Krankenhaus noch in der Stadt seitdem nicht vorgekommen.

Chinin hat der Pat. 3mal erhalten: 1mal per os vor seiner Aufnahme in das Krankenhaus, 2mal subkutan während seines Aufenthaltes dortselbst. Ein lauwarmes Bad wurde täglich verabfolgt.

Zusammenfassung.

Wir haben es also hier mit einem Fall von *Febris recurrens* zu tun, der ohne irgend eine Abweichung vom gewöhnlichen Verlauf das reine Bild der Infektion darstellt.

Die am Tage der Krise aufgefundenen kleinen hellblauen Körperchen kann ich nicht als parasitäre Elemente der Malaria auffassen, obgleich die rötlichen Chromatinkörnchen einen derartigen Gedanken aufkommen lassen könnten. Unser Pat. hat früher nie an Malaria gelitten. Wenn der Kranke auch in einem Zimmer gelegen hat, in welchem sich etwa 20 Malariafiebernde befanden, so meine ich doch, daß die seit seiner Aufnahme und dem Tage, an welchem die genannten Gebilde zuerst beobachtet wurden (6—7 Tage), verstrichene Zeit zu einer Inkubation der Malaria nicht hinreicht, außer wenn man annehmen würde, daß von Anfang an eine Mischinfektion vorgelegen hätte. Doch hätten wir diese, glaube ich, bei der täglichen Blutuntersuchung feststellen müssen. Abgesehen davon, darf man nicht übersehen, daß der Pat. während seines 25-tägigen Aufenthaltes im Krankenhause außer dem einen Rückfall niemals eine Temperatursteigerung hatte, noch sich im geringsten unwohl fühlte. Pat. verließ das Krankenhaus vollständig genesen und hat seitdem keinen Fieberanfall wieder gehabt.

Die Blutplättchen weisen ja allerdings bei der Malaria zuweilen eine Ähnlichkeit mit den oben beschriebenen Körperchen auf; doch zeigen sie in unserem Falle ein feines rötliches, netzförmiges, das ganze Protoplasma deckende Gewebe. Wenn diese Gebilde nicht als künstliches Produkt der Färbung anzusehen sind, so kann ich sie mir nicht erklären.

Nachdruck verboten.

Geißelfäden an den Spirillen des Rekurrens- und des Zeckenfiebers.

Von Prof. C. Fraenkel-Halle.

Mit 1 Tafel.

Gegenüber den bemerkenswerten Stimmen einer ganzen Anzahl hervorragender Fachgenossen, die die Spirillen des Zecken- und des Rekurrensfiebers den tierischen Kleinwesen zuzurechnen geneigt sind, will ich hier unter Vorlegung entsprechender Abbildungen nur noch einmal, wie ich dies schon bei früherer Gelegenheit¹⁾ getan habe, auf das Vorkommen von Bewegungswerkzeugen bei den verschiedenen Arten von Schrauben hinweisen, die meines Erachtens kaum einen Zweifel daran lassen, daß man es hier mit echten Angehörigen des Pflanzenreichs, mit eigentlichen Bakterien bezw. mit nächsten Verwandten dieser Gruppe von Mikroben zu tun hat. Was die Herstellung der hier photographierten Präparate betrifft, so sei bemerkt, daß es nicht ganz leicht ist, gute, für die Wiedergabe geeignete Deckgläschen anzufertigen. Doch ist andererseits die Vorbereitung der Objekte keineswegs besonders umständlich, und schon in meiner eben erwähnten Veröffentlichung habe ich darauf verwiesen, wie man verfahren muß, um die hier sich bietenden Schwierigkeiten zu überwinden. Von besonderer Bedeutung ist dabei eine gehörige Ausbreitung einer feinen, gleichmäßigen und von Blutkörperchen freien Schicht auf dem Deckglase, wie man sie am besten dadurch erhält, daß man das von infizierten Tieren herrührende, beispielsweise aus der Carotis stammende Blut zunächst mit Glasperlen schüttelt und darauf mittels der Schleudermaschine von seinen Blutkörperchen befreit. Der übrigbleibende Rest wird alsdann mit sterilisierter Kochsalzlösung aufgenommen, abermals auf der Zentrifuge mit großer Geschwindigkeit ausgeschleudert und eben diese Behandlung 3—4mal, d. h. so lange wiederholt, bis die Spirillen, von allen Bestandteilen des Blutes befreit, als feine, grauweiß aussehende Schicht auf dem Boden des Röhrchens liegen. Hierauf taucht man eine Platinnadel in diese Lage der Schrauben ein, breitet sie dann in tunlichst feiner Schicht auf einem Deckgläschen aus, trocknet rasch und zieht das Gläschen endlich 2mal durch die Flamme, um so eine gehörige Fixierung herbeizuführen. Die Färbung hat dann endlich durch Beizung mit gerbsaurem Antimonoxyd und nachfolgender Versilberung mit Aethylaminsilberlösung statt.

Hatte Borrel²⁾ mit Hilfe dieses, zuerst von Zettnow³⁾ beschriebenen Verfahrens bei der *Spirochaete gallinarum*, dann Zettnow⁴⁾

1) Hyg. Rundschau. 1907. p. 263. 1. März.

2) Compt. rend. de la soc. de biol. T. LX. No. 3. p. 138.

3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXX. p. 95. Klin. Jahrb. Bd. XI. p. 379.

4) Dtsche med. Wochenschr. 1906. p. 376. Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. p. 539.

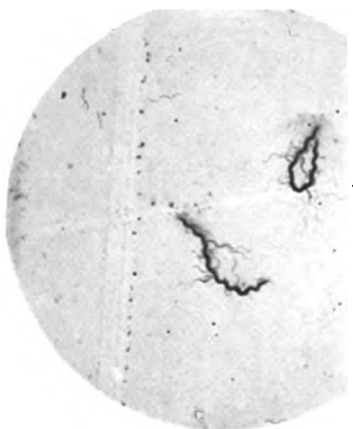


Fig. 1.

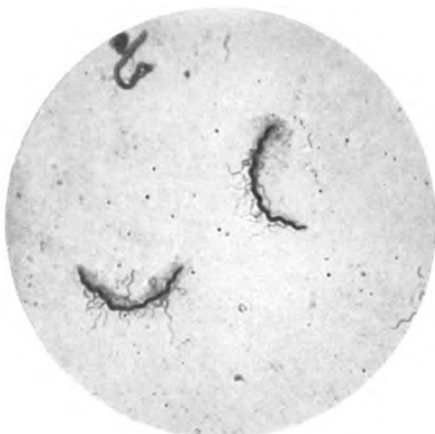


Fig. 2.

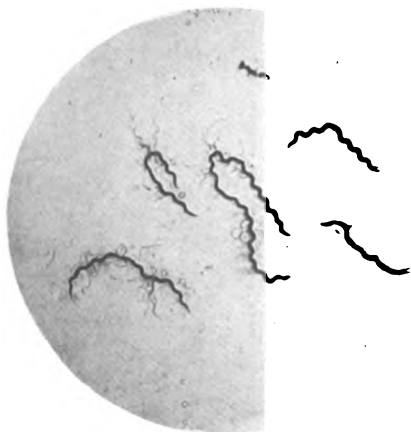


Fig. 3.

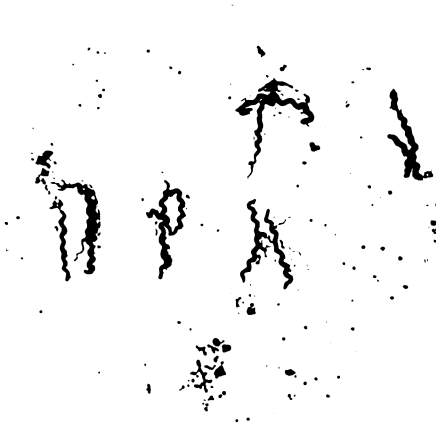


Fig. 4.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über *Trypanosoma Brucei* und über *Tr. equinum*¹⁾.

[Hygienisches Institut der Universität in Siena. Direktor Professor A. Sclavo.]

Von Dr. D. Ottolenghi, Assistent und Privatdozent.

Mit 19 Figuren.

Unsere Kenntnisse über die Entwicklung der pathogenen *Trypanosomen* bei den Säugetieren sind noch gering, denn unsere Erfahrungen reichen nicht sehr weit über den Lebenskreis dieser Parasiten hinaus, der sich durch einfache monogonische Teilung charakterisiert, die man leicht im Blute der zur Infektion geeigneten Säugetiere beobachten kann. Es wurde bezweifelt, und von vielen wird es noch bezweifelt, daß die geschlechtliche Entwicklung der *Trypanosomen* bei Säugetieren nicht vorkommt, sondern bei Insekten, wie die Tsetsefliege, denen die Fähigkeit zugeschrieben wird, gewisse Arten der *Trypanosomiasis* zu verbreiten. Gewiß ist es aber, daß wir bis jetzt keine sicheren Anhaltspunkte haben, die wirklich beweisen, daß jene Insekten obligate Zwischenwirte der *Trypanosomen* sind. Andererseits wird angenommen, daß dieselben Insekten nur mechanische Träger der *Trypanosomen* seien und daß vielmehr die Säugetiere der wirkliche Sitz für dieses Virus seien, das infolgedessen in den Säugetieren selbst die amphigonische Phase seines Lebenszyklus wie die monogonische durchläuft. Dies wurde mit besonderem Nachdruck in letzter Zeit von Bruce und anderen über die Schlafkrankheit und Nagana gesagt, aber wenn zur Bekräftigung dieser Annahme einige indirekte Experimente in Ansehung der Zeit, während der die Fliegen, die mit *Trypanosomen* durchsetztes Blut eingesaugt haben, ansteckungsfähig bleiben, herbeigeschafft werden können, ist es andererseits gewiß, daß auch hier sichere Beweise mangeln, die uns die von Bruce und anderen vertretene Idee wahr erscheinen lassen könnten; d. h. es fehlt das Konstatieren von zur geschlechtlichen Entwicklung gehörigen Formen der *Trypanosomen* bei den Säugetieren.

Meine diesbezüglichen Untersuchungen liegen über ein Jahr zurück, wo meine Aufmerksamkeit, während ich mit Nagana experimentierte, bei den Meerschweinchen und infizierten Ratten auf das Vorhandensein einiger besonderer Formen der *Tryp. Brucei* gelenkt wurde, die bisher von anderer Seite noch keine Erwähnung fanden und nicht den Anschein erweckten, den Figuren, die man bei gewöhnlicher Teilung zu sehen gewohnt ist, zugezählt werden zu dürfen. Unter diesen Formen waren vor allem einige besonders interessant; sie boten Bilder der Vereinigung des Hinterendes eines großen vielkernigen *Trypanosoma* mit einem anderen, das in der Form sich nicht bemerkenswert von den gewöhnlich im Blute vorhandenen Parasiten unterscheidet. Die gewissenhafte Untersuchung dieser Figuren in den mikroskopischen Präparaten zeigte außerdem, daß die Vereinigung der Hinterenden beider *Trypanosomen* durch wirk-

1) Die Ergebnisse von Untersuchungen, die von mir bei diesen *Trypanosomen* angestellt worden sind, wurden nach und nach in den „Atti della R. Accad. dei Fisiocritici di Siena. 1906 u. 1907“ und in dem „Monitore Zoologico italiano. 1907 u. 1908“ veröffentlicht.

liche Fusion beider Teile erfolgt war; andererseits behebt das Studium bei frischen Präparaten dieser selben Figuren jeden Zweifel, daß sie als Anhäufung, Verklebung oder als sonst irgendwie gekünstelte Formen betrachtet werden könnten.

Einige Zeit nachher gelang es mir, gänzlich analoge Beobachtungen bei mit *Tryp. equinum* infizierten Tieren anzustellen, und später, als ich einschlägiges Material von Herrn Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. P. Ehrlich erhielt, auch bei mit *Tryp. gambiense* infizierten Tieren.

Nach solchen Betrachtungen ergab sich sofort die Idee, daß die oben beschriebenen Figuren als Konjugationsphänomen betrachtet werden müßten und daß die anderen vorher betrachteten Formen bei den Infektionen von *Tryp. Brucei* und ferner bei den Infektionen von *Tryp. equinum* oder *Tryp. gambiense* — Formen, die ich später beschreiben werde — vor und nach der Konjugation Evolutionsstadien des *Trypanosoma* darstellen könnten.

Um aber hinreichend zu beweisen, daß man es im Vorhergehenden mit Konjugationsbildern zu tun hat, denn man könnte auch erklären, daß bei den Säugetieren ein Befruchtungsprozeß der studierten Trypanosomen zu konstatieren ist, waren andere Untersuchungen nötig, die einige jener den Kern interessierenden Tatsachen, die die Befruchtung zu begleiten und klar zu beweisen pflegen, zur Gewißheit erheben könnten.

Indem ich meine Versuche in dieser Richtung fortsetzte, konnte ich nunmehr eine Serie von Beobachtungen zusammenstellen, die im Einklang stehen mit meinen vorhergehenden Schlüssen, und die mir daher geeignet erscheinen, hier zusammengefaßt zu werden, jedoch unter dem Vorbehalt, die Ergebnisse meiner Untersuchungen eingehender zu behandeln, wenn ein noch unvollendeter Teil derselben abgeschlossen sein wird.

In dieser Mitteilung werde ich mich mit *Tryp. Brucei* und mit *Tryp. equinum* beschäftigen, weil ich bezüglich des *Tryp. gambiense* noch einige Punkte zu erforschen habe.

Ich bemerke, daß den hier aufgezeichneten Figuren Präparate zugrunde liegen, die mit Material infizierter Meerschweinchen hergestellt worden sind und wegen größerer Klarheit nur die Hauptlinien der mikroskopischen Bilder enthalten, gezeichnet vermittelt der Hellkammer Apäthy in einer Vergrößerung von ungefähr 1800 Diameter.

I.

Ich hatte schon Gelegenheit, zu erwähnen, daß in den mit *Tryp. Brucei* und *Tryp. equinum* infizierten Tieren in einem gegebenen Momente Figuren erscheinen, die durch Fusion von zwei Trypanosomen gebildet werden, von denen eines sich gewöhnlich von den im Blute vorhandenen Trypanosomen scheinbar nicht unterscheidet, während das andere — ungefähr um das Doppelte — größer ist und in seinem Inneren mehrere Kerne enthält (s. z. B. Fig. 1, *Tryp. equinum*). Ferner sagte ich, daß eine solche Fusion stets durch die Hinterenden beider Parasiten vor sich geht, die an einer gewissen Stelle verschmelzen. Die Untersuchung einer großen Anzahl solcher Bilder zeigt, daß bei Beginn der Fusion oder, man könnte sagen, der Konjugation bisweilen noch eine Art feiner Zwischenschicht wahrzunehmen ist (Fig. 1, a), die der Oberfläche entspricht, an der die beiden kopulierenden Individuen zuerst in gegenseitige Berührung gekommen sind. Aber das seltene Auftreten der Figuren, worin diese Zwischenschicht wahrnehmbar ist, im Gegen-

satz zu den anderen, wobei die Kontinuation zwischen den Protoplasmen zweier Trypanosomen vollständig ist, zeigt klar, daß jede Trennung in einem ziemlich frühen Stadium der Konjugation verschwindet.

Außerdem zeigt das kleinere Individuum, man kann sagen den Mikrogamet, in einer früheren Serie von Konjugationsbildern, und gewiß in jenen, bei denen die Paarung erst kurz vorher erfolgt ist, einen einzigen, mit ziemlich einfachen Strukturen versehenen Kern, während das größere Individuum, der Makrogamet, mehrere, gewöhnlich drei, Kerne enthält, von denen einer exzentrisch ist und mehr oder weniger in der Nähe des Hinterendes liegt und mit drei undulierenden Membranen ausgestattet ist. Zwei davon nehmen ihren Ursprung vor dem Hinterende, durchlaufen die ganze Länge des Trypanosoma bis zu seinem Vorderende, wo sie in einer einzigen Geißel oder in zwei Geißeln enden. Die dritte Membran hingegen entsteht im tiefsten Teile des Hinterendes des Makrogameten in der Nähe des Blepharoplasten des Mikrogameten und kann, ähnlich den anderen beiden, oder auch in geringerem Maße, mehr oder weniger lang sein, endet aber frei und ist auch gewöhnlich eine Strecke lang unabhängig vom Körper des Makrogameten. Außerdem wäre zu bemerken, daß nicht immer in den sich in Konjugation befindlichen Makrogameten drei Membranen zu sehen sind. Dies hängt zuweilen davon ab, daß bei der Herstellung des Präparates eine der Membranen unter dem Körper des Parasiten oder in den Falten der anderen beiden verborgen gefunden wird, und daher ist es nur möglich, jene Membran vermittelst sorgfältigster Untersuchung zu erkennen. Aber in anderen für die Untersuchung angemessenen Fällen sieht man, daß die dritte Membran fehlt (s. z. B. Fig. 5), oder auch, was zu Seltenheiten gehört, vier Membranen (Fig. 3, *Tryp. equinum*) bestehen. Das Vorhandensein von mehr als zwei Membranen im Makrogameten erscheint daher nicht als eine gänzlich beständige Eigenschaft, vielmehr nur außerordentlich häufig.

Hinsichtlich der oben beschriebenen Typen bietet der Kernteil in einer anderen Serie von Konjugationsbildern interessante Veränderungen. Im Mikrogameten ist der Kern nicht mehr einzeln, er setzt sich vielmehr gewöhnlich aus drei Bestandteilen zusammen (Fig. 2, *Tryp. Brucei*, Fig. 3, *Tryp. equinum*), wovon einer, der dem Blepharoplasten nächstgelegene, den Charakter eines gewöhnlichen Kerns zeigt, während die anderen beiden, obwohl auch diese rundlich sind und Stückchen Chromatin enthalten, einem in mehr oder weniger vorgeschrittenem Karyolysestadium befindlichen Kerne gleichen. Im Makrogameten befindet sich der exzentrische Kern im Hinterende hinter den Blepharoplasten, von denen die undulierenden Membranen, die den ganzen Körper des Protozoen durchsetzen, ausgehen; der Blepharoplast der dritten Membran liegt neben oder hinter dem exzentrischen Kern und unweit des Blepharoplasten des Mikrogameten; die zentralen Kerne sind zu unregelmäßigen Chromatinbrocken umgewandelt oder erscheinen durch ihre homogene Färbung oder durch Unklarheit ihres Baues von einem degene-

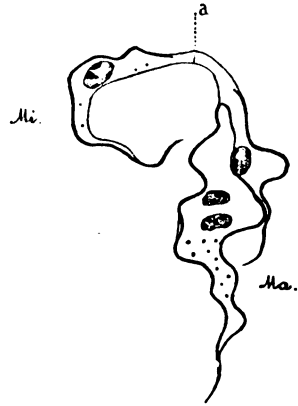


Fig. 1.

rierenden Prozesse ergriffen. Außerdem vollzieht sich die Degeneration in jedem dieser zentralen Kerne des Makrogameten nicht immer gleichzeitig. Bisweilen äußert sie sich bereits in einem, während sie im anderen noch fehlt oder kaum begonnen hat.



Fig. 2.



Fig. 3.

In einer anderen Serie von Konjugationsbildern endlich kann man für die uns beschäftigende Frage außerordentlich interessante Erscheinungen feststellen, die hauptsächlich im folgenden bestehen: Ein Stückchen Substanz von besonderer Struktur löst sich vom Kern des Mikrogameten ab, wandert in seinem Körper gegen das Hinterende und dringt dann in den Makrogameten ein, um sich mit dem exzentrischen Kerne des Makrogameten selbst in Beziehung zu setzen.

Im Tryp. Brucei, über das meine Beobachtungen bei diesen Erscheinungen zahlreicher sind, kann man verschiedene Gruppen von Konjugationsbildern unterscheiden, die den verschiedenen von mir besprochenen Stadien entsprechen:

1) Konjugationsbilder, wobei der Mikrogamet den zu einer Masse umgebildeten Kern ohne klare Struktur aufweist (wenn hier auch die zwei von mir oben beschriebenen chromatischen Massen sich vorfinden, so sind sie doch stark verändert). An diesen angelehnt befindet sich an dem gegen das Hinterende gerichteten Teile eine mit Romanowskys Färbung rötlich gefärbte Art rundlicher Scholle, enthaltend vier intensiv tiefrot gefärbte, in Tetraden gruppierte Körnchen (Fig. 4 a).

2) Konjugationsbilder, wobei der Mikrogamet in der Nähe des Vereinigungspunktes mit dem Makrogameten eine rundliche, rötlich gefärbte Scholle zeigt, wie die oben beschriebene, die aber, anstatt der Tetrade, zwei unter sich verbundene, dicke Körner enthält, die daher ein rot-farbenes, hantelähnliches Körperchen bilden (Fig. 5, a).

3) Konjugationsbilder, wobei der Mikrogamet nicht mehr das hantelähnliche Körperchen enthält. Im Inneren des Makrogameten hingegen und in geringer Entfernung des Vereinigungspunktes mit dem Mikrogameten zeigt sich das Vorhandensein eines Körperchens, das die genaue Form einer Hantel hat und das in Form, Größe und Färbung dem bei den anderen eben erwähnten Konjugationsbildern in Mikrogameten be-

obachteten völlig ähnlich ist, mit der Beschränkung, daß es hier nicht mehr von einer rötlich gefärbten Scholle umgeben ist (Fig. 6, a).

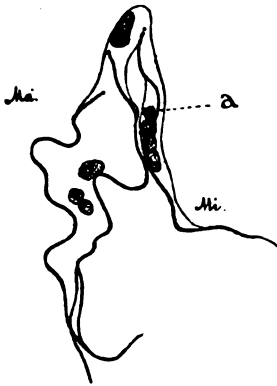


Fig. 4.

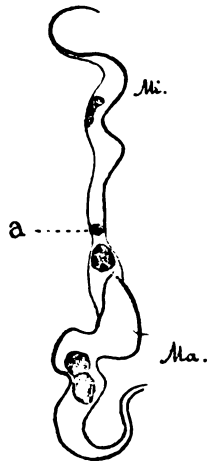


Fig. 5.

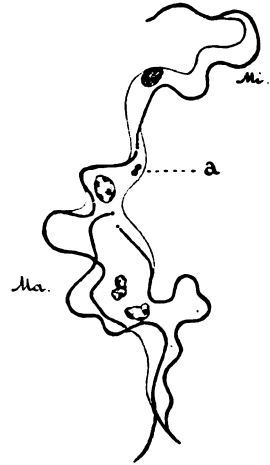


Fig. 6.

4) Konjugationsbilder, wobei jenes hantelähnliche Körperchen bis zur vollständigen Anlehnung mehr oder weniger in der Nähe des exzentrischen Kernes des Makrogameten liegt oder nur durch einen sehr kleinen Zwischenraum getrennt ist, worin sich eine rötliche Färbung

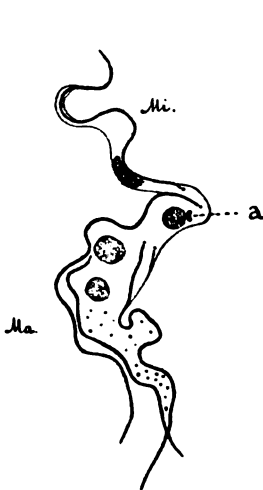


Fig. 7.

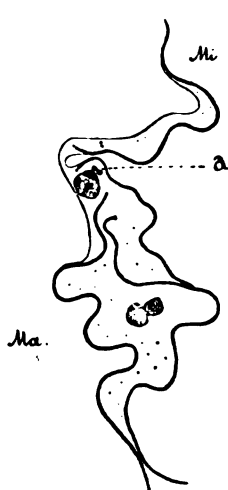


Fig. 8.

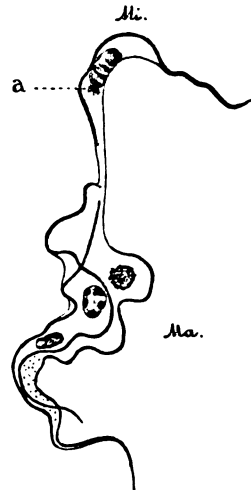


Fig. 9.

zeigt (Fig. 7, a und Fig. 8, a). Ich füge gleich hinzu, daß jenes vom Mikrogameten ausgehende Körperchen nur an den von mir bezeichneten Stellen vorkommt, so daß man den richtigen Schluß ziehen darf, der exzentrische Kern des Makrogameten bilde das Ziel seiner Wanderung.

Beim *Tryp. equinum* bieten sich Bilder dar, die denen des *Tryp. Brucei* ziemlich ähnlich sind, jedoch mit dem Unterschiede, daß das

vom Kern des Mikrogameten sich ablösende (Fig. 9 a) und dann in den Makrogameten eindringende Körperchen aus einem Substanzstückchen von elliptischer, langgestreckter, stäbchenartiger Form besteht (Fig. 10 a). Gegenwärtig ist es unmöglich, zu erklären, ob diese Verschiedenheiten zwischen den beiden Trypanosomen, wie auch jene anderen, in demselben *Tryp. Brucei* beobachteten, d. h. daß erst eine Tetrade und dann ein hantelähnliches Körperchen im Mikrogameten erscheint, sei es nun wirklich oder nur scheinbar. In der Tat, es könnte sein, daß die vier eng gegeneinander gepreßten Körner der Tetrade in der Weise, in der sie sich dem Beobachter zeigen, bald das Bild einer Hantel, bald das eines elliptischen Kügelchens bieten. Es bleibt daher neuen Untersuchungen vorbehalten, diesen Punkt zu entscheiden.

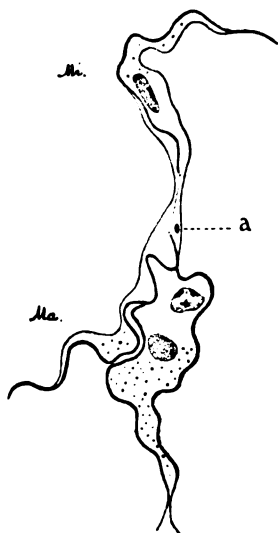


Fig. 10.

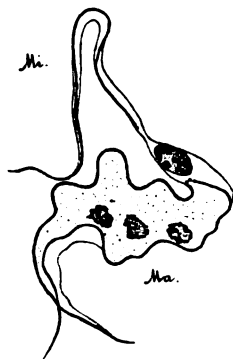


Fig. 11.



Fig. 12.

In der von mir zusammengestellten Serie von Beobachtungen sind die Konjugationsformen, in denen das vom Mikrogameten ausgegangene Körperchen sich an den Kern des Makrogameten angeschlossen hat, auch die letzten, in denen jenes Körperchen noch erkennbar ist.

Etwas später befindet sich am Hinterende des Makrogameten (Fig. 11, *Tryp. Brucei* und Fig. 12, *Tryp. equinum*) ein größerer und zuweilen bedeutend größerer Kern¹⁾ als der in den vorausgehenden Stadien beobachtete. Dies läßt mit Sicherheit annehmen, daß jenes Körperchen verschwunden ist, weil es mit dem exzentrischen Kerne des Makrogameten verschmolzen ist, und daß dieser gerade durch eine derartige Fusion vergrößert ist.

Daß die Vergrößerung des exzentrischen Kernes des Makrogameten nach der Anlehnung des vom Mikrogameten abstammenden Körperchens vor sich geht, findet in mehreren Tatsachen Bestätigung. Vor allem sieht man bei den infizierten Meerschweinchen, daß in einem gewissen Zeitraume die ohne bemerkenswerte Veränderungen des Kernteils und

1) Die Länge der Maximal- und Minimalaxen des exzentrischen Kernes des Makrogameten schwankt vor der Befruchtung, resp. zwischen 2 bis 2,7 μ und 1,5 bis 2 μ , nach der Befruchtung zwischen 3,2 bis 5 μ und 2 bis 3 μ .

die jenes Körperchen enthaltenden Konjugationsformen häufig vorkommen, und daß in einem anderen, dem ersten folgenden Zeitraume, diese Formen sehr selten geworden sind, während die anderen durch einen großen Kern des Makrogameten und durch die Abwesenheit des vom Makrogameten stammenden Körperchens charakterisierten, ziemlich zahlreich sind. Außerdem, während die ersten Formen einen Mikrogameten aufweisen, worin immer mehr oder weniger reichlich vorhandene und ziemlich gut erhaltene Kernreste sichtbar sind, haben die zweiten hingegen einen, gewöhnlich jedes Kernrestes völlig entbehrenden Mikrogameten. Endlich, in diesen selben zweiten Formen erscheinen jetzt — im weitaus größten Teile der Fälle — die zentralen Kerne des Makrogameten, die während der oben beschriebenen Stadien schon ziemlich verändert erschienen, noch mehr degeneriert.

Also erscheint es auf Grund all dieser Tatsachen gerechtfertigt, zu schließen, daß bei den infizierten Tieren der Konjugation von zwei in Größe und Bau verschiedenen Trypanosomen ein wirklicher Befruchtungsprozeß folgt, der sich durch Eindringen eines vom Kerne des Mikrogameten stammenden Substanzstückchens in den Makrogameten und durch allmähliche Fusion einer solchen Substanz mit einem besonderen Kerne des Makrogameten äußert. Deswegen erscheint es sicher, daß das *Tryp. Brucei* und das *Tryp. equinum* (und wahrscheinlich auch das *Tryp. gambiense*¹⁾, von dem — wie ich sagte — sich mir schon Gelegenheit bot, mehrere, den anderen zwei Parasiten ganz ähnliche Konjugationsformen zu beobachten) fähig sind, in den empfänglichen Säugetieren, wie Meerschweinchen und Ratten²⁾, Formen darzubieten, die zu einem Zyklus geschlechtlicher Entwicklung gehören, der sich in jenen Tieren vollzieht.

Im Einklang mit dieser Folgerung stehen noch zwei Reihen von Tatsachen, deren eine die Modifikationen angeht, die der Makrogamet vor der Befruchtung erfährt, während die andere die der Befruchtung des Makrogameten folgende Evolution betrifft.

II.

Zur Erleichterung der Erklärung halte ich es für angebracht, zu sagen, was in dem befruchteten Makrogameten vorgeht. Während einer gewissen Infektionsperiode, wo man aus der mikroskopischen Untersuchung erkennt, daß die Konjugationsformen sehr selten geworden oder zu solchen herabgemindert sind, bei denen der Mikrogamet keine Kernspur mehr aufweist, begegnet man Makrogameten, worin die zentralen Kerne entweder verschwunden sind, oder sich in einem stark vorgeschrittenen Veränderungsstadium befinden und am Hinterende entweder, wie schon gesagt, nur einen sehr großen Kern oder aber zwei blasenähnliche Kerne von gleichen Dimensionen (Fig. 13, *Tryp. Brucei*), oder aber auch mehrere Kerne, gewöhnlich drei oder vier (Fig. 14, *Tryp. Brucei*), zeigen. Oft bemerkt man gleichzeitig Elemente — die augenscheinlich Makrogameten sind, weil ihnen noch der gut erkennbare, obgleich sehr veränderte Mikrogamet anhaftet, oder weil sie,

1) In letzter Zeit habe ich auch bei mit *Tryp. equiperdum* infizierten Ratten Konjugationsbilder dieses Parasiten gefunden, die den der anderen bis jetzt von mir studierten Trypanosomen äußerst ähnlich sind.

2) In dieser Mitteilung habe ich nur infizierte Meerschweinchen betreffende Figuren abgebildet, weil bei diesen Tieren die Serie meiner Beobachtungen zahlreicher und vollständiger ist; aber auch bei den Ratten habe ich die den hier beschriebenen Stadien angehörenden hauptsächlichsten Formen bemerkt.

trotzdem sie keine Spur des Mikrogameten zeigen, den eben erwähnten im Aussehen völlig ähnlich sind¹⁾ — bei denen die drei Membranen sich zu teilen beginnen, und so entstehen sechs Blepharoplasten und drei undulierende Membranen mit doppeltem, freiem Saum in der Nähe der Blepharoplasten (Fig. 15, Tryp. Brucei).

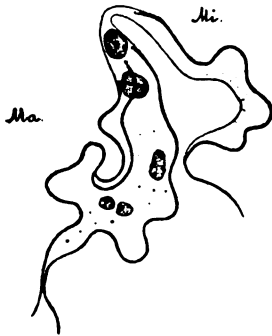


Fig. 13.

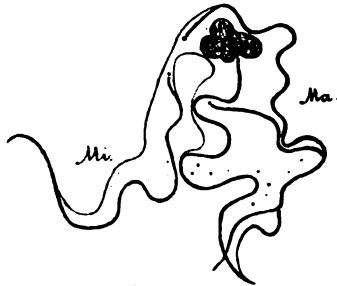


Fig. 14.

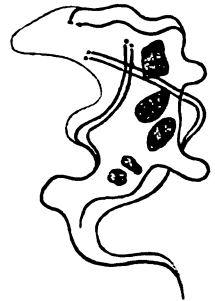


Fig. 15.

Abgestufte Uebergangsformen gestatten außerdem, zu erkennen, daß in anderen Makrogameten die von der Teilung des befruchteten Kerns herrührenden Kerne sich nach und nach dem Zentrum des Parasiten nähern, wo sie fortfahren, sich zu vermehren, und daß gleichzeitig auch die undulierenden Membranen und die Geißeln sich vermehren bis zum Auftreten großer, mit mehreren Kernen, mehreren undulierenden Membranen und mehreren Geißeln versehener Elemente (Fig. 16 und 17, Tryp. Brucei).

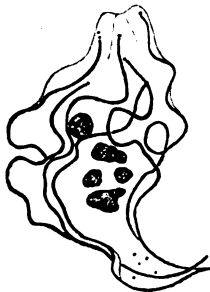


Fig. 16.

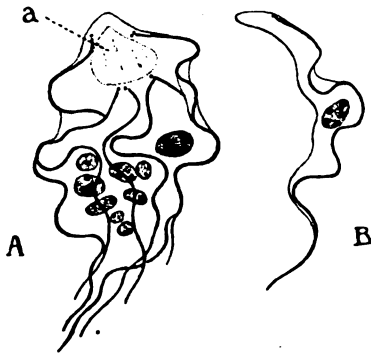


Fig. 17.

In diesem Punkte scheint es gewiß, daß von den ursprünglichen zentralen Kernen des Makrogameten keine Spur übrig bleibt; außerdem geht ihr letztes Verschwinden langsam vor sich, in der Weise, daß man davon bisweilen, wenn die Vermehrung der ersten, vom befruchteten Kern stammenden Kerne schon vorgeschritten ist, einige Fragmente sehen kann. Ich füge hinzu, daß ein derartiges letztes Verschwinden

1) In dieser Infektionsperiode befinden sich nicht selten in den Präparaten freie Elemente, die augenscheinlich von Makrogameten nach stattgehabter Befruchtung losgelöste Mikrogameten sind.

der zentralen Kerne wahrscheinlich durch Auflösung im Protoplasma geschieht, denn in diesem Stadium und auch in anderen Momenten, wenn die Degeneration jener zentralen Kerne frühzeitig sich ereignet, nimmt das Protoplasma des Makrogameten vermittelt Romanowskys Färbung einen ausgedehnten, ziemlich intensiven Farbenton an und enthält nicht selten ziemlich große Fragmente homogener Substanz, die sich lebhaft rot färben und sich in Form unregelmäßiger, rundlicher oder pyramidalen Körperchen zeigen (Fig. 12, a).

In den Elementen mit vielen undulierenden Membranen und vielen Kernen befinden sich diese gegen das Zentrum des Parasiten hin und die Blepharoplasten nahe beim Hinterende, so daß, wenn sich in diesem Momente die Protoplasmateilung in ebensoviel verschiedene Individuen vollzieht, als undulierende Membranen sind, Trypanosomen entstehen müssen, die den gewöhnlich im Blut vorhandenen in Aussehen und Bau äußerst ähnlich sind ¹⁾).

Diese Betrachtung ist nicht ohne Wichtigkeit, denn es versteht sich leicht, wie schwierig es sein muß, Formen zu begegnen, in denen, wenn die Protoplasmateilung beschleunigt vor sich geht, sie gut sichtbar ist; wie ungemein schwierig muß es daher sein, die so entstandenen Individuen zu erkennen. Wenn ich deshalb hinzufüge, daß es mir bisher nicht gelungen ist, Makrogameten dann zu beobachten, wenn sie sich in viele Trypanosomen teilen, so wird dies, obwohl eine Lücke bildend, die ich auszufüllen mich bestrebe, weder Staunen erregen, noch Einwand erheben gegen die Deutung der von mir dargelegten Tatsachen. Weiter beobachtet man, daß eine solche Lücke wirklich klein ist, denn ich habe Formen mit vielen Kernen und mit vielen völlig entwickelten Membranen beobachten können, bei denen am Hinterende entweder mehrere Hohlräume erschienen, oder ein (Fig. 17, a), vielleicht durch Fusion dieser Hohlräume, die man wohl als der definitiven Teilung vorausgehend betrachten muß, geschaffener, großer Hohlraum sich zeigte. Endlich beobachtet man, daß bei den infizierten Meerschweinchen — und besonders bei mit Nagana infizierten, wobei alle beschriebenen Erscheinungen mit großer Regelmäßigkeit sich vollziehen — wenig Zeit nach Entstehung der vielkernigen Elemente, wovon ich spreche, nur die gewöhnlichen Trypanosomen und die gewöhnlichen ungeschlechtlichen Teilungsfiguren gefunden werden, gerade als ob jene nunmehr in gewöhnliche Trypanosomen geteilt wären und so ihre Evolution erfüllt hätten.

Wenn es nun doch möglich ist, daß neue Studien andere befruchtete Makrogameten betreffende Besonderheiten aufhellen, ist es gewiß — wenigstens für die Gegenwart — begründet anzunehmen, daß ihre Entwicklung durch Teilung in eine gewisse Anzahl sehr ähnlicher, wenn nicht mit den Trypanosomen identischer Individuen, die sich gewöhnlich im Organismus infizierter Tiere befinden, endet.

III.

Ich habe schon gesagt, daß auch im Makrogameten vor der Konjugation einige die Struktur angehende Besonderheiten wahrnehmbar sind, die mit der Annahme, der Konjugation folge die Befruchtung, harmonieren. Obwohl es nicht immer leicht fällt, zu erklären, ob ein

1) In der Fig. 17 habe ich neben dem großen Elemente A eines der gewöhnlichen Trypanosomen B aufgezeichnet, um zu zeigen, wie wenig leicht es auch hinsichtlich der Länge wäre, diese letzteren von denen, die einfach aus der vervielfachten Teilung des großen Elementes hervorgehen könnten, zu unterscheiden.

gewisses Element, wenn zu seiner Charakterisierung, die so auffallende Erscheinung der Konjugation mangelt, ein Makrogamet ist, habe ich nichtsdestoweniger in den hauptsächlich zur Infektionsperiode — in der die ersten Konjugationsstadien vorherrschen — gehörenden Präparaten hier und dort Parasiten sehen können, die, wegen der Größe und Form als Makrogameten betrachtet werden müssen und gewöhnlich zwei gegen das Zentrum des Körpers hin gelegene, intensiv gefärbte Kerne und einen bald blasenähnlichen, bald runzligen exzentrischen Kern mit fünf chromatischen Körperchen darstellen. Dieser Kern befindet sich in verschiedenen Figuren desselben Typen mehr oder weniger in der Nähe des Hinterendes des Trypanosoma, so daß er den klaren Eindruck erweckt, gerade gegen das Hinterende hin vorzudringen, um in den zu befruchtenden Makrogameten die ihm gewohnte Stellung einzunehmen. Aber mehr: Wenn sich dieser Kern im Hinterende befindet, ist er oft von ein (Fig. 18, a, Tryp. Brucei) oder zwei (Fig. 19, a, Tryp. Brucei) chromatischen Massen in Form rundlicher Kerne — aber blasser als der eigentliche Kern — und mit einem oder mehreren unregelmäßigen Chromatinkörnchen versehen, begleitet. Von diesen Massen verbleibt im Momente der Verbindung und Befruchtung keine Spur.

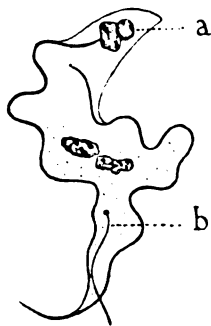


Fig. 18.



Fig. 19.

Ich habe das Entstehen und Verschwinden dieser Massen noch nicht beobachten können, aber die Tatsache, daß sie sich in unmittelbarer Nähe des exzentrischen Kernes befinden, daß bald eine sichtbar wird, bald zwei erscheinen und sich im Augenblicke der Befruchtung nicht mehr zeigen, läßt mit Recht bezweifeln, daß sie vielleicht aus jenem Kern entstehen, und daß wir uns hier vor einer Erscheinung befinden, die jener der Ausstoßung der Polarkörperchen ähnelt.

Hier ist es vielleicht nicht unnütz, daran zu erinnern, daß, wie ich schon oben sagte, vor der Entstehung jenes Körperchens, das in den Makrogameten eindringen wird, der anfänglich einzige Kern im Mikrogameten sich von zwei chromatischen Massen begleitet zeigt (Fig. 2 und 3), die später wie der wirkliche Kern degenerieren. Nun ist es klar, daß man bei diesen besonderen Modifikationen des Mikrogameten im Anfang der Konjugation veranlaßt wird — und vielleicht ist es nicht unwahrscheinlich, hier das Richtige getroffen zu haben — die Zeichen der Reife des Mikrogameten, der die Entstehung des zur Befruchtung des Makrogameten bestimmten Körperchens folgen würde, zu erkennen.

IV.

Endlich deute ich darauf hin, daß, was die Struktur der Makrogameten betrifft, diese scheinbar nur in einem ziemlich vorgeschrittenen Lebensstadium mit drei Membranen ausgestattet sind. Tatsächlich habe ich Elemente beobachtet — die den eine Konjugation eingegangenen Makrogameten ganz ähnlich sehen — mit dem exzentrischen, im Hintertheile des Körpers schon sehr weit vorgeschrittenen Kerne und die nur zwei undulierende Membranen hatten; andere, wobei sich anstatt einer undulierenden Membran eine nach Art einer Geißel dünne, von der einen Seite freie Faser befindet, die von der anderen Seite in inniger Beziehung steht mit einem die Größe eines Blepharoplasten wenig übersteigenden, vor die zentralen Kerne gelagerten Körperchen (Fig. 18, b); andere, wobei diese Faser nach hinten bis in die Nähe des exzentrischen Kernes sich verlängerte (Fig. 19, b); und andere Elemente endlich, wobei sich die drei Membranen mit dem schon beschriebenen Aussehen befanden. Alle diese Sachen dürften zeigen, daß die dritte Membran impar ist und daß sie sich in den Makrogameten, die sie besitzen, nur entwickeln würde, wenn sie schon mit dem exzentrischen Kerne im Hinterende für die Konjugation präpariert erscheinen.

Nachdruck verboten.

Zur Infektionsmöglichkeit der Hühner mit Dourinetrypanosomen.

[Aus dem Kaiserl. Institut für experimentelle Medizin zu St. Petersburg
(Abt. A. Wladimiroff).]

Von **W. L. Yakimoff** und **Nina Kohl**.

Die ursprüngliche Lehre von der Unempfindlichkeit der Vögel gegenüber pathogenen Trypanosomen der Säugetiere geriet ins Schwanken, als es den späteren Untersuchern gelang, durch Tierimpfungen anstatt der bisherigen mikroskopischen Prüfungen den Trypanosomennachweis im Blute gewisser Vogelarten zu führen.

So konnte Schilling (1) von 3 Gänsen, denen er Togaland-Nagana einführte, 2 infizieren. Mesnil und Martin (2) berichten von geglückter Infektion mit Nagana und Surra ebenso bei Gänsen, während Hühner mit Nagana nicht infiziert werden konnten. Die Versuche mit Mal de Caderas fielen sowohl bei Gänsen wie auch Hühnern negativ aus. Goebel (3) hat dagegen mit gutem Erfolge Nagana auf Hähne und Hühner übertragen.

Gelegentlich unserer Dourineuntersuchungen suchten wir der Frage über die Empfindlichkeit der Hühner gegenüber dem Trypanosoma Rouget auf experimentellem Wege näher zu kommen, um so mehr, als Rouget (4) selbst von einer absoluten Dourineimmunität der Vögel (Hühner, Tauben, Sperlinge) und der Fledermäuse spricht, gleichviel in welcher Weise und Anzahl die pathogenen Trypanosomen in ihren Organismus eingeführt werden.

Als Versuchstiere dienten uns 4 Hühner, die teils subkutan, teils intravenös mit trypanosomenhaltigem Meerschweinchenblut infiziert wurden.

Vor der Injektion wurde eine Zählung der roten Blutkörperchen vorgenommen zwecks Beurteilung ihres quantitativen Verhaltens während der Infektion zum Vergleich mit den entsprechenden Veränderungen bei Säugetieren, wie sie von Bruce (5), Kanthack, Durham und Blandford (6), Lignières (7), della Vida und C. Verdozzi (8), Yakimoff (9) beobachtet worden sind. Das Verhalten der weißen Blutkörperchen, welche uns bei den Trypanosomen besonders interessieren [Yakimoff (9), della Vida und C. Verdozzi (8)], verfolgten wir durch Aufstellung einer entsprechenden Leukocytenkurve.

Zur Zählung der roten und der weißen Blutkörperchen benutzten wir den Potainschen Mischer und die Zeissche Kammer. Als Mischungsflüssigkeit diente für die Erythrocyten eine Methylviolett-CiNa-Lösung, für die Leukocyten die Uskoffsche 0,33-proz. Essigsäure-CiNa-Lösung. Die Erythrocytenzahl wurde aus der Zählung von 100 kleinen Quadraten, die der weißen aus der Bestimmung von 100 Gesichtsfeldern (Zeiss, Ok. 2, Obj. D) in 3 Kammerfüllungen festgestellt.

Zum Nachweis der Trypanosomen im Blute der Hühner wurde dasselbe sowohl mikroskopisch untersucht als auch weißen Mäusen subkutan eingeführt.

Tabelle I.
Huhn 1.

Datum	Temperatur		Zahl der Erythrocyten	Zahl der Leukocyten	
	morgens	abends			
1907					
3. Febr.			3 120 000	11 359	
4. "		40,9°	2 976 000	9 970	
5. "	41,5°	41,0°	2 752 000	9 381	Um 4 p. m. Injektion von trypanosomenhaltigem Meerschweinchenblut in die Flügelvene
6. "	41,0°	41,1°		15 986	Um 2 Uhr Impfung einer weißen Maus. Negatives Resultat
7. "	41,3°	41,3°		9 886	
8. "	41,5°	41,0°		15 043	Um 12 m. Impfung einer weißen Maus. Negatives Resultat
9. "	40,7°	41,7°		14 302	
10. "	41,9°	41,6°		17 192	Um 5 p. m. Impfung einer weißen Maus. Negatives Resultat
11. "	41,8°	40,9°			
12. "	41,5°	41,4°			
13. "	40,9°	41,2°		10 728	
14. "	41,5°	41,3°			
15. "	40,9°	41,2°		13 126	Impfung einer weißen Maus. Negatives Resultat
16. "	41,0°	41,4°			
17. "	41,0°	41,3°		10 928	
18. "	40,7°	41,2°			
19. "	40,9°	41,5°			
20. "	41,0°	41,5°			
21. "	40,2°	41,3°			Impfung einer weißen Maus. Negatives Resultat
22. "	41,5°	41,6°			
23. "	41,3°	41,8°			
24. Febr. bis 26. März	Temperatur zw. 40,2° und 41,9°				
17. April	—	—			Impfung einer weißen Maus. Negatives Resultat
20. "	—	—	2 520 000	—	

Huhn 1. Erythrocytendurchschnittszahl (gezählt an 3 Tagen vor der Injektion) 2916000, Leukocytenzahl 10233. 5. Febr. Injektion einer ziemlich großen Menge trypanosomenreichen Meerschweinchenblutes in die Flügelvene.

Die Leukocytenzahl stieg gleich am folgenden Tage auf 15986 und blieb (ausgenommen am 7. Febr.) während der folgenden Tage auf gleicher Höhe, nach 5 Tagen betrug sie 17192, um von da ab wieder zu fallen.

Die Temperatur, welche vor der Injektion durchschnittlich $41,2^{\circ}$ betrug, stieg am 10. Febr. (Höhepunkt der Leukocytenkurve) nur unbedeutend auf $41,9^{\circ}$ und fiel nach 2 Tagen auf ihre ursprüngliche Höhe. In der folgenden Zeit (44 Beobachtungstage) blieb sie mit Ausnahme von 3 Malen (23. Febr. abends $41,8$, 4. März abends $41,9$, 17. März abends $41,9$) stets normal.

Zum Nachweis der Trypanosomen im Blute wurde eine entsprechende Menge davon am 2., 5., 6., 10. und 16. Tage post infectionem aus der Flügelvene des Huhnes entnommen und weißen Mäusen eingeführt.

Sowohl die mikroskopische Untersuchung des Blutes auf Trypanosomen, wie auch das Tierexperiment ergaben stets negative Resultate. Somit erwies sich der Organismus dieses Tieres als völlig resistent gegenüber den Dourinetrypanosomen.

Auch während der folgenden Beobachtungszeit zeigte das Huhn keine Veränderungen; es legte Eier und magerte nicht ab.

Die Erythrocyten betrugen 70 Tage nach der Infektion 2520000, also kaum weniger als vor der Injektion.

Tabelle II.
Huhn 2.

Datum	Temperatur		Zahl der Erythrocyten	Zahl der Leukocyten	
	morgens	abends			
1907					
9. Febr.		41,3°	2 912 000	31 804	7¼, h. p. m. subkut. Injektion von trypanosomenhalt. Meerschweinchenblut
10. "	40,7°	40,9°			
11. "	42,1°	41,9°			
12. "	41,9°	41,0°			
13. "	40,2°	41,1°		33 908	
14. "	41,7°	41,0°		36 811	
15. "	41,0°	41,1°			Impfung einer weißen Maus. Negatives Resultat
16. "	41,5°	41,0°		32 772	
17. "	41,2°	41,5°			
18. "	40,9°	41,6°		26 546	
19. "	41,2°	41,8°			
20. "	41,0°	41,2°			
21. "	41,3°	41,1°		31 804	Impfung einer weißen Maus. Nach 10 Tgn. können in ihrem Blute Trypanosomen nachgewiesen werden
22. "	41,1°	41,1°			
23. Febr.	} Temperatur 39,9° bis 42,2°				
bis					
28. März					
29. März					Impfung von 2 weißen Mäusen. Am 7. April werden Trypanosomen in ihrem Blute nachgewiesen
17. April					Impfung einer weißen Maus. Negatives Resultat
19. "			2 928 000		

Huhn 2. 11. Febr. subkutan mit Erfolg infiziert.

Erythrocyten am Tage vor der Infektion 2912000, Leukocyten 31804, Temperaturdurchschnitt $41,2^{\circ}$. Die Leukocytenzahl stieg am 3. Tage nach der Infektion auf 36811 und fiel während der nächsten Tage wieder allmählich ab.

Temperatursteigerungen waren im allgemeinen nicht zu verzeichnen (ausgenommen am 8. März aus unbekannten Gründen). Mikroskopisch ließen sich die Trypanosomen im Blute nicht nachweisen, doch fiel der Tierversuch am 10. Tage nach der Infektion positiv aus (weiße Maus erkrankte nach 8 Tagen), während ein gleicher Versuch am 3. Tage post infectionem noch resultatlos verlaufen war.

Das Blut erwies sich noch infektiös 46 Tage nach der Infektion, da eine weiße Maus nach erfolgter Impfung am 10. Tage Trypanosomen im Blute zeigte, am 64. Tage verlief ein wiederholter Impfversuch jedoch resultatlos.

Später schwanden alle Krankheitssymptome und das Huhn genas.

Zwei Hühner wurden gleichzeitig am 26. April mit Dourinetrypanosomen vom Meerschweinchen infiziert, und zwar Huhn 3 auf subkutanem Wege, Huhn 4 auf intravenösem.

Von Huhn 3 wurden weiße Mäuse am 5., 8., 12., 16., 19. und 24. Tage nach der Infektion geimpft, doch stets mit ausbleibendem Erfolg. Die Temperatur war merkwürdigerweise nach der Infektion während der ganzen Beobachtungszeit, bis zum 15. Aug., niedriger als vor der Infektion.

Auch bei Huhn 4 verliefen die am 2., 5., 8., 12., 16., 19. und 24. Tage post infectionem ausgeführten Tierimpfungen mit negativem Resultat. Die Körpertemperatur, welche vor der Infektion durchschnittlich $41,7^{\circ}$ betrug, stieg $1\frac{1}{2}$ Stunden nach Einführung der Trypanosomen auf $42,3^{\circ}$ und fiel wieder am nächsten Tage. Am 4. Tage ist eine abermalige wesentliche Erhöhung der Temperatur zu verzeichnen; sonst war sie stets gegenüber der Durchschnittstemperatur vor der Infektion nur wenig erhöht.

Von den 4 infizierten Hühnern erkrankte somit nur eins an Dourine und zwar gerade eins von jenen, welchen die Trypanosomen auf subkutanem Wege eingeführt worden waren, während beide Fälle von intravenöser Injektion resultatlos verliefen.

Die Leukocytenkurve der Hühner 1 und 2 zeigte uns eine Leukocytose, wie wir sie als „parasitäre“ Leukocytose nach Trypanosomeninfektion bei Säugetieren kennen gelernt haben. Auf Grund unserer Versuche ziehen wir den Schluß, daß auch Hühner unter Umständen der Dourineinfektion zugänglich sind, die Infektion jedoch überstehen. Es liegen somit hier dieselben Verhältnisse vor, welche von verschiedener Seite bei Infektion von Vögeln mit anderen Säugetiertrypanosomen beobachtet worden sind.

Literatur.

- 1) Schilling, A., Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. XXI. 1904. 2) Mesnil, F., et Martin, G., Compt. Rend. Soc. Biol. T. LX. 28 avr. 1906. 3) Goebel, O., Compt. Rend. Soc. Biol. 27 oct. 1906. 4) Rouget, Ann. Inst. Pasteur. T. X. 1896. 5) Bruce, Preliminary Report on the tze-tze fly disease or Nagana in Zululand. 1895. 6) Kanthack, Durham and Blandford, Proceed. of the Roy. Soc. Vol. LXIV. 1898. 7) Lignières, Rev. de la Societad Medica Argentina. Buenos Aires 1902. 8) Levi della Vida e Verdozzi, Carlo, Annali d'Igiene Sperimentali. Vol. XVI. 1906. Folia haematol. 1906. No. 9. 9) Yakimoff, W., Arch. des Sciences biolog. No. 3. 1907.

Nachdruck verboten.

Ueber Züchtungsversuche der *Spirochaete pallida*.

Von Marinestabsarzt Dr. P. Mühlens und Oberarzt Dr. Löhe.

Mit 1 Abbildung.

Die vielen Spirochätenzüchtungsversuche haben für die *Spirochaete pallida* noch kein endgültiges Ergebnis gezeitigt. Levaditi (1) war es gelungen, in mit Affenserum gefüllten Kollodiumsäckchen die *Sp. gallinarum*, später auch die Rekurrens- sowie die *Balanitispirochäte* zu züchten. Fast gleichzeitig gelang es Mühlens (2), die *Sp. dentium* in flüssigen und auf festen Nährböden (Serumagar), auf denen sie in sehr zarten, hauchartigen Kolonien wuchsen, anaërob in Reinkultur zu züchten. — Auf dem internationalen Hygienekongreß in Berlin (Sept. 1907) teilte Levaditi mit, daß es ihm mit Hilfe der Kollodiumsäckchenmethode gelungen sei, auch die *Sp. pallida*, allerdings in Mischkultur, in der Affen- und später auch in der Kaninchenbauchhöhle in zahlreichen Passagen fortzuzüchten. Der Gang seiner Versuche war kurz folgender: Reizserum eines Affenprimäraffektes mit wenig zahlreichen *Sp. pallidae* wurde in Kollodiumsäckchen gebracht, die mit $\frac{1}{2}$ Stunde lang auf 60° erhitztem Menschen Serum gefüllt waren. Die Säckchen wurden dann in die Affenbauchhöhle gebracht; das Tier war gleichzeitig mit Stückchen des Primäraffektes am oberen Lidrand geimpft. Als nach 23 Tagen am Augenrand ein positiver P. A. festzustellen war, wurde der Säckcheninhalt untersucht. Neben Bakterien fanden sich zahlreiche, zum Teil in Knäueln liegende Spirochäten, die Levaditi ihrem morphologischen Verhalten nach für *Pallidae* hielt. Die seinerzeit demonstrierten und auch die der Levaditischen Publikation (3) beigegebenen Zeichnungen entsprechen zum größten Teil den Bildern, die wir von der *Sp. pallida* kennen; bei manchen Bildern ist aber auch eine große Ähnlichkeit mit den in der Mühlens-Hartmannschen Arbeit (4) abgebildeten Zahnspirochäten nicht zu verkennen. Versuche, mit den Mischkulturen Affen syphilitisch zu infizieren, schlugen fehl.

Der eine von uns hatte sich bereits früher längere Zeit im Institut für Infektionskrankheiten mit *Pallida*-Züchtungsversuchen befaßt. Diese Versuche wurden von uns gemeinsam in der kgl. Poliklinik für Hautkrankheiten und im Institut für Infektionskrankheiten in Berlin im November 1907 wieder aufgenommen. Ueber dieselben können wir kurz folgendes berichten:

1) Züchtungsversuche in der Tierbauchhöhle mit der Säckchenmethode.

Nach der Levaditischen Methode wurden Versuche angestellt an 13 Affen (*Cercocebus fuliginosus* und *Macacus rhesus*), sowie an 1 Hund und 1 Kaninchen. Benutzt wurden Kollodium- oder Schilfrohrsäckchen, die nach vorausgegangener Sterilisierung in kochendem Wasser gefüllt wurden teils mit inaktiviertem Menschen Serum, teils mit inaktiviertem Affenserum, teils mit Affenserum und mit aus Affenleber hergestellter Bouillon. Als Impfmateriale dienten Reiz- oder Saugserum von Primäraffekten (von Menschen und Affen), von nässenden Papeln, Saugserum von Pemphigusblasen, ferner infizierte Kaninchencornea und

in einem Falle Saugserum von Efflorescenzen von *Framboesia tropica*. Bei manchen Tieren wurden je 1 Kollodium- und 1 Schilfrohrsäckchen in die Bauchhöhle gebracht.

Ueber die Versuche geben folgende kurze Protokollauszüge Aufschluß:

1) 18. Nov. Schilfrohrsäckchen, gefüllt mit inaktiviertem Menschenserum, geimpft mit Stückchen von syphilitischer Keratitis parenchymatosa (*Sp. pallidae* +++). — Am 16. Dez. Eröffnung der Affenbauchhöhle. Das Säckchen, das vielleicht beim Einlegen geplatzt war, ist nicht zu finden.

2) 23. Nov. Schilfrohrsäckchen, gefüllt mit inaktiviertem Menschenserum, geimpft mit Saugserum von Pemphigusblase (*Sp. pallidae* +++). — 9. Dez. In dem durch die vereiterte Operationswunde entleerten Säckchen finden sich reichlich Staphylo- und Streptokokken, keine Spirochäten.

3) 26. Nov. Schilfrohrsäckchen, gefüllt mit inaktiviertem Menschenserum, geimpft mit Stückchen Primäraffekt von einem Seidenaffen (*Sp. pallida* +). — 16. Dez. Säckchen nicht aufzufinden.

4) 28. Nov. Kollodiumsäckchen, gefüllt mit inaktiviertem Menschenserum, geimpft mit Corneastückchen (*Sp. pallida* +). — 3. Jan. 08. Säckchen im Netz eingebettet, gut erhalten. Keine Spirochäten.

5) 5. Dez. Schilfrohrsäckchen mit inaktiviertem Menschenserum, geimpft mit Saugserum von nässenden Papeln (*Sp. pallida* +). — 30. Dez. Im Säckchen keine Spirochäten.

6) 7. Dez. Schilfrohrsäckchen und Kollodiumsäckchen (dieses platzt beim Einführen), gefüllt mit inaktiviertem Menschenserum, geimpft mit Saugserum von Frambösepapel (*Sp. pallida* ++). — Am 6. Jan. 08 bei Sektion Säckchen nicht gefunden.

7) 10. Dez. Schilfrohr- und Kollodiumsäckchen, gefüllt mit inaktiviertem Menschenserum, geimpft mit Saugserum von einer nässenden Papel (*Sp. pallida* ++). — 18. Dez. Exitus: Beide gut erhaltenen Säckchen enthalten reichlich Streptokokken und einzelne grobe Spirochäten, keine sicheren *Pallidae*.

8) 11. Dez. Je 1 Kollodium- und 1 Schilfrohrsäckchen, gefüllt mit inaktiviertem Menschenserum, geimpft mit Saugserum und Stückchen von einer Frambösepapel (*Sp. pallida* +++). — 6. Jan. 08. Keine Spirochäten in den gut erhaltenen Säckchen.

9) 17. Dez. Schilfrohrsäckchen, gefüllt mit inaktiviertem Menschen- und Affenserum zu gleichen Teilen, geimpft mit Stückchen von Kaninchen-Keratitis syphilitica. — 4. Jan. 08. Im gut erhaltenen Säckchen einzelne Kokken und Bakterien, keine Spirochäten.

10) 11. Jan. 08. 2 Schilfrohrsäckchen, gefüllt mit inaktiviertem Menschen- und Affenserum zu gleichen Teilen, geimpft mit nässender Papel (*Sp. pallida* ++++). — 3. Jan. Nur Seidenfäden gefunden. Säckchen resorbiert.

11) 14. Jan. 08. Je 1 Kollodium- und 1 Schilfrohrsäckchen, gefüllt mit Affenleberbouillon + inaktiviertem Affenserum mit roten Blutkörperchen, geimpft mit Saugserum von Primäraffekt (*Sp. pallida* ++++). — 4. Jan. Beide Säckchen gut erhalten, keine Spirochäten nachzuweisen.

12) 20. Jan. 08. Je 1 Schilfrohr- und 1 Kollodiumsäckchen, gefüllt mit Affenleberbouillon + inaktiviertem Affenserum, geimpft mit Stückchen von Primäraffekt (*Sp. pallida* ++). — 3. Jan. In den gut erhaltenen Säckchen nur Staphylo- und Streptokokken.

13) 24. Jan. 08. Kollodiumsäckchen, gefüllt mit Affenleberbouillon + inaktiviertem Affenserum, geimpft mit Saugserum aus einer Pemphigusblase (*Sp. pallida* ++++). — 15. Jan. Säckchen gut erhalten, keine Spirochäten, mäßig zahlreiche Kokken.

14) 27. Nov. (Hund). Kollodiumsäckchen mit Menschen- und Schilfrohrsäckchen mit Hundeserum, beide geimpft mit Stückchen von Keratitis syphilitica dieses Hundes (*Sp. pallida* +). — 18. Dez. Bei Sektion werden die Säckchen nicht gefunden.

15) 28. Nov. (Kaninchen). Kollodiumsäckchen, gefüllt mit inaktiviertem Menschenserum, geimpft mit Corneastückchen von Keratitis syphilitica eines Kaninchens. — 7. Jan. 08. Säckchen nicht gefunden.

Das Resultat unserer beschriebenen Zuchtungsversuche ist demnach ein negatives; einige der Versuche sind als mißglückt zu bezeichnen. Auffallend war es, daß bei der Sektion trotz sorgfältigsten Durchsuchens der Bauchhöhle in manchen Fällen von den eingeführten Säckchen keine Spur mehr nachzuweisen war. Sie waren offenbar resorbiert worden. Trotzdem wir in den meisten Fällen ein spirochätenreiches Ausgangs-

material hatten, gelang es nicht, eine Vermehrung derselben in serumhaltigen Kollodium- oder Schilfrohrsäckchen in der Affenbauchhöhle nachzuweisen.

2) Kulturversuche auf festen und flüssigen Nährböden.

Als Ausgangsmaterial dienten dieselben syphilitischen Affektionen (vergl. unter 1), also spirochätenreiches Material.

Die folgenden flüssigen Nährböden wurden benutzt:

- 1) Neutrale Bouillon (2 Teile) + Pferdeserum (1 Teil), frisch oder inaktiviert;
- 2) schwach alkalische Bouillon (2 Teile) + Pferdeserum (1 Teil), frisch oder inaktiviert;
- 3) aus Affenleber hergestellte Bouillon (neutral) + Pferde- oder Affenserum;
- 4) aus Kaninchenleber hergestellte Bouillon (neutral) + Pferde- oder Affenserum;
- 5) Affenleberbouillon + Leberstückchen, frisch, 1 Stunde bei 60° oder bei 100° erhitzt;
- 6) gewöhnliche Bouillon + Affenleberstückchen, frisch, 1 Stunde bei 60° oder bei 100° erhitzt;
- 7) gewöhnliche Bouillon + Kaninchenleberstückchen, frisch, 1 Stunde bei 60° oder bei 100° erhitzt;
- 8) 9) 10) dieselben Nährböden wie 5) 6) 7) + Pferdeserum.

Die Kulturen in flüssigen Nährböden wurden aerob und anaerob (Uebersichten mit Schmalz bzw. Paraffin) angelegt.

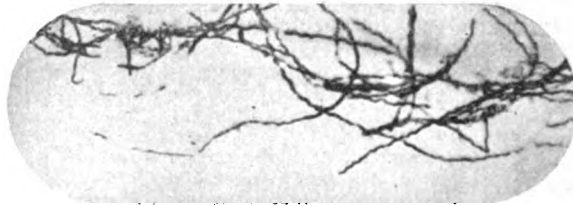
Von festen Nährböden wurden versucht:

- 1) Neutraler Agar (2 Teile) + Pferdeserum (1 Teil);
- 2) neutraler Agar + Affenserum;
- 3) neutraler Agar + Menschenserum;
- 4) Traubenzuckeragar + Serumzusatz;
- 5) Milchzuckeragar + Serumzusatz;
- 6) Glukoseagar + Serumzusatz;
- 7) Placentaagar (nach Kutscher) mit oder ohne Traubenzucker, mit Pepton Witte oder Pepton Chapoteau + die verschiedenen Serumarten;
- 8) Lecitholagar (bereitet wie gewöhnlicher Agar; statt Pepton Zusatz von Lecithol) + verschiedene Serumarten;
- 9) die verschiedenen Agararten (u. a. Placentaagar + Ascitesagar 2:1) mit Blutzusatz;
- 10) die verschiedenen Agararten mit Glycerinzusatz.

Anm.: Das Serum wurde in der Regel steril entnommen; wenn dies nicht möglich war, wurde es durch fraktionierte Sterilisation oder Chloroformzusatz keimfrei gemacht. Die Agarkulturen wurden angelegt in fallenden Verdünnungen nach der Methode der Zahnspirochätenzüchtung (Mühlens) (2); mitunter wurden aber auch gleich mit dem Ausgangsmaterial hohe Stichkulturen (Mischkulturen) angelegt.

Das Resultat war auch hier bei sämtlichen Züchtungsversuchen negativ bezüglich der *Spirochaete pallida*. Erwähnt sei nur noch, daß wir in einer von syphilitischem Pemphigus angelegten Kultur in der unteren Hälfte des Serumagarröhrchens eine Kolonie, bestehend aus großen groben, bei Lebenduntersuchung regelmäßig gewundenen, unbeweglichen, ziemlich stark lichtbrechenden Fäden gefunden haben. Nach Giemsa gefärbt, wiesen viele derselben (namentlich einzeln liegende)

eine große Aehnlichkeit mit der *Sp. refringens* auf, viele aber, namentlich in Knäueln zusammenliegende, mit Verzweigungen, hatten ein fadenpilzähnliches Aussehen (vergl. Abbild., Mikrophot. v. Zettnow, Vergr. 1:1000). Leider gelang die Weiterzüchtung der Kultur



Phot. E. Zettnow. Vergr. 1:1000.

nicht, da uns der gleiche Nährboden damals nicht zur Verfügung stand (Placentaagar + Pferdeserum). Wir verzichten daher darauf, den Befund näher zu deuten.

3) Versuche der Züchtung in Kapillarröhrchen.

In letzter Zeit versuchten wir, in Kapillarröhrchen (nach Form der 25 Port. Lymphe enthaltenden Phiolen) die Spirochäten, auch die *Sp. refringens* zu züchten. Die Röhrchen wurden zur Hälfte aufgefüllt mit Affenleberbouillon oder Affenleberbouillon + Affenserum oder Affenserum allein; alsdann wurde das Material (syphilitisches Saugserum) aufgesogen und schließlich die Kapillare mit Nährflüssigkeit vollgefüllt. Auch versuchten wir, in Reizserum ohne jeden Zusatz eine Vermehrung zu erzielen. Wir konnten mehrmals beobachten, daß *Sp. pallidae* in mit Affenserum gefüllten Röhrchen nach 5–10 Tagen noch deutliche, allerdings träge Bewegungen zeigten; in einem Röhrchen waren sie nicht zu unterscheiden von der Bewegung in frisch entnommenen Präparaten. Ob in den Röhrchen eine Vermehrung stattgefunden hat, wagen wir nicht zu entscheiden. Ueberimpfungen in Kapillarröhrchen mit dem gleichen Kulturmedium mißlangen.

Unsere sowie die zahlreichen mühevollen negativen Züchtungsversuche anderer zeigen, wie außerordentlich schwierig die Kultivierung der *Spirochaete pallida* zu sein scheint. Sicher ist jedenfalls, daß die Wachstumsbedingungen der *Sp. pallida* ganz andere sind wie die der ihr in mancher Hinsicht morphologisch ähnlichen kultivierbaren *Spirochaete dentium*.

Literatur.

- 1) Levaditi, C., Culture du spirille de la fièvre recurrente africaine de l'homme. (C. r. Acad. des sc. T. CXLII. No. 20.)
- 2) Mühlens, P., Ueber Züchtung der Zahnspirochäten und fusiformen Bacillen auf künstlichen (festen) Nährböden. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 20.)
- 3) Levaditi, C. und McIntosh, J., Contribution à l'étude de la culture de „*Treponema pallidum*“. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XXI. 1907.)
- 4) Mühlens, P. und Hartmann, M., Ueber *Bacillus fusiformis* und *Spirochaete dentium*. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LIII. 1906. Heft 1.)

Nachdruck verboten.

Spirochäten aus dem Darmtraktus von Pinna: Spirochaete pinnae nov. spec. und Spirochaete Hartmanni nov. spec.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg.

Leiter: Med.-Rat Prof. Dr. Nocht.]

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. Richard Gonder, Hamburg.

Mit 1 Tafel.

Im Magen und Darm und besonders im Kristallstiel der Pinnen finden sich ungemein häufig in kleineren oder größeren Mengen Spirochäten. Perrin¹⁾ gab zuerst für die in der Auster unter gleichen Bedingungen lebende Spirochaete Balbiani eine eingehendere Beschreibung über Morphologie und teilweise auch über die Entwicklung dieses Protozoons. Ferner beschrieb Keysselitz²⁾ eine der Spirochaete Balbiani sehr ähnliche Form aus dem Darmtraktus von Anodonta mutabilis. Zu derselben Art ist auch eine größere, im Kristallstiel der Pinnen lebende Spirochäte zu stellen, die ich Spirochaete pinnae nennen will. Außer dieser Spirochäte kommt noch, allerdings nicht so häufig, eine kleine Form vor, die ich zu Ehren meines Freundes, M. Hartmann, Spirochaete Hartmanni nenne, auf welche ich erst ganz am Schlusse eingehen will. Sowohl in jungen, als auch in alten Exemplaren von Pinna squamosa und Pinna nobilis finden sich fast regelmäßig diese Spirochäten. Da noch weitere Untersuchungen vorliegen und am lebenden Objekt gewisse Stadien näher verfolgt werden müssen, so soll im folgenden nur eine kurze Beschreibung dieser beiden neuen Spirochäten gegeben werden.

Untersuchungsmethoden.

Die Untersuchungsmethoden waren die für Spirochäten üblichen gewesen. Vor allem wurde am lebenden Objekt beobachtet, was besonders für das Studium der undulierenden Membran zu empfehlen ist. Die Präparate wurden in folgender Weise hergestellt: Auf Deckgläschen wurden mit dem Kristallstiel feine Ausstriche angefertigt, dieselben an der Luft getrocknet, in absolutem Alkohol fixiert, wieder getrocknet und nach Giemsa gefärbt. Auch die in Osmiumdämpfen getrockneten Ausstriche waren für die Giemsa-Färbung gut geeignet. Weit bessere Resultate erzielte ich mit der feuchten Konservierung. Die Ausstriche wurden mit der sogenannten Butterseite auf heißen Sublimat-Eisessig-Alkohol (Schaudinn) oder auf warme Flemmingsche oder Hermannsche Lösung fallen lassen und ca. 5 Minuten fixiert. Die auf diese Weise konservierten Ausstriche werden am besten nach Heidenhain oder nach der neuen Methode von Hartmann (in 3½-proz. Eisenalaun 1 Stunde beizen, auswaschen und färben in einem Gemisch

1) Perrin, W. S., A preliminary communication on the life history of Trypanosoma Balbiani. (Proceed. on the Royal Soc. Vol. LXXVI. 1905.) — Researches upon the life history of Trypanosoma Balbiani. (Arch. f. Protistenk. Bd. VII. Heft 1. Jena 1906.)

2) Keysselitz, G., Beschreibung von Spirochaete anodontae. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. Bd. XXIII. 1906. p. 566.)

von 1-proz. alkohol. Hämatoxylin und Lithionkarbonat [10 ccm : 5 ccm]) gefärbt.

Spirochaete pinnae.

Die Spirochäten dieser Art variieren in der Größe sehr. Die kleinsten Individuen messen in der Länge ca. 10 μ , die größten bis 50 und 60 μ , in der Breite $\frac{1}{2}$ —3 μ samt Periplast. Die beiden Enden sind nicht gleichmäßig abgerundet, sondern das eine, welches ich als das vordere ansprechen möchte, und in welchem der Blepharoplast gelagert ist, ist etwas stumpfer. — Die Bewegungen sind äußerst mannigfaltig. Sie korkzieherartig drehend und sich schlängelnd, bewegen sie sich vor- und rückwärts. Sitzen sie mit dem einen oder anderen Ende fest, so führen sie, ähnlich wie die Trypanosomen, mit dem freien Ende schnellende und peitschende Bewegungen aus. Stoßen sie auf einen Widerstand, der ein weiteres Vordringen verhindert, so ändert die undulierende Membran ihre nach der einen Richtung hin führenden Bewegungen, so daß die Wellen nach der entgegengesetzten Richtung laufen. Auf diese Weise kann der Zellkörper, ohne mit den Enden umzukehren, sich vor- und rückwärts bewegen. Häufig tritt eine Pause ein, man sieht die Spirochäte gestreckt daliegen und nur die undulierende Membran deutlich wellenartig über den Zelleib hingleiten. Bald beginnt ein neues Spiel, die Spirochäte erhält plötzlich durch die kontraktilen Fibrillen der undulierenden Membran starke Windungen und verschwindet blitzschnell aus dem Gesichtsfeld. Zwei offenbar verschiedene Entwicklungsformen lassen sich schon leicht am lebenden Objekt erkennen. Bei der einen Form ist die Beweglichkeit nicht so groß als bei der anderen. Auch der Periplast erfährt nicht eine so starke Ausbildung. Fig. 1—6 geben erstere Form wieder, Fig. 8—10 die letztere. Sehr wahrscheinlich handelt es sich hier um männliche und weibliche und indifferente Formen, wie sie auch Perrin unterscheidet.

Die undulierende Membran ist bei fast allen Formen mit den angegebenen Farblösungen im Präparat deutlich darzustellen. Der den Periplast begrenzende Randfaden erscheint nach Giemsa rötlich, nach Heidenhain tiefschwarz. Mitunter erkennt man sehr gut feinste Fibrillen, deren Zahl ich bisher noch nicht feststellen konnte (Fig. 7, 8, 9 und 12). Bei einigem Suchen gelingt es, mazerierte Spirochäten zu finden, deren undulierende Membran aufgefaset ist (Fig. 7). Gerade bei solchen Individuen treten unverkennlich die feinen Fibrillen hervor.

Fast den gleichen komplizierten Kernapparat, wie ihn Perrin für *Spirochaete Balbiani* und Keysselitz für *Spirochaete anodontae* beschrieben haben, finden wir auch bei *Spirochaete pinnae*. Verhältnismäßig selten ist ein den ganzen Zellkörper durchziehender Kernstab vorhanden (Fig. 1). Am meisten fand ich denselben noch bei den oben erwähnten Formen, die sich durch ihre große Beweglichkeit auszeichnen (männlich?) (Fig. 9 u. 10). Bei den übrigen, wahrscheinlich weiblichen oder indifferenten Individuen ist das Chromatin in Form von unregelmäßigen Bröckchen, Stäbchen, Körnchen oder in Form eines Chromidialnetzes im Zellkörper verteilt. Sehr häufig ist die Zelle gleichsam in Schächtelchen eingeteilt, in denen die Chromatinkörner zu Vierergruppen regelrecht angeordnet sind (Fig. 3). Die Bildung solcher Vierergruppen steht vielleicht mit der Fortpflanzung durch Längsteilung in einem Zusammenhang, insofern sich der Kernstab oder die Bröckchen und die Stäbchen etc. aufteilen (Fig. 2), zu zweien und vierten gruppieren, sich dann trennen und den Seiten entlang anordnen (Fig. 13).

Auf diese Art fallen gleiche Chromatinmassen auf die Tochterindividuen. Bei anderen Spirochäten wurde auch bereits auf ähnliche Chromatinverteilung aufmerksam gemacht.

Die undulierende Membran steht an dem abgestumpfteren Ende der Spirochäte, welches ich als das vordere Ende bezeichnete, mit einem feinen Korn, dem Blepharoplasten, in Verbindung. Nach dem hinteren Ende läuft die Membran spitz aus und verliert sich allmählich. Nach Giemsa sich rot färbende Körnchen konnten auch in dem äußersten Teil von diesem Ende nachgewiesen werden; ob es sich aber hier um Chromatin handelt, möchte ich bezweifeln.

Ganz vereinzelt finden sich Individuen, in welchen sich das Chromatin an einer Stelle angesammelt hat. In Fig. 4 u. 5 sind derartige Formen mit den sogenannten Protoplasmaknöpfen wiedergegeben. Ob diese Stadien Degenerations- oder Geschlechtsstadien vorstellen, muß ich dahingestellt sein lassen. — An manchen Individuen scheint vom Blepharoplast eine zart struktuierte kurze Geißel auszugehen, die ich in den Präparaten allerdings nur vereinzelt fand, am lebenden Tier niemals beobachtete. — Eingerollte Formen (Fig. 6, Ruhestadium), entweder nur mit dem einen Ende oder auch gänzlich eingerollt, sind mit Farbstoffen schwer zu differenzieren. — Ein eigentümliches Stadium, vielleicht eine Involutionsform, ist in Fig. 11 abgebildet.

Die Fortpflanzung durch Längsspaltung konnte in ihren Details noch nicht verfolgt werden. Sie scheint ungemein rasch vor sich zu gehen. Sie beginnt ähnlich wie bei den Trypanosomen an dem einen, dem vorderen, Ende mit der Teilung des Blepharoplasts. Das Chromatin ordnet sich, wie bereits gesagt, im Zellkörper an den Seiten an, damit gleiche Chromatinmassen auf die Tochterindividuen fallen (Fig. 13). Ueber die Neubildung der Membran, resp. Entstehung einer doppelten Membran, bin ich mir noch nicht klar geworden; es scheint, als ob sukzessiv durch Teilung kleinster Chromatinkörnchen eine neue Membran gebildet wird¹⁾.

Eine eigenartige Verschlingung zweier Spirochäten ist in Fig. 12 wiedergegeben. Zwei ziemlich gleich große Spirochäten, aber verschieden in ihren morphologischen Verhältnissen, liegen mit den beiden Enden fest aneinander. Ich glaube, daß hier Kopulation vorliegt, die eine Form eine männliche Form ist, die andere eine weibliche.

Spirochaete Hartmanni.

Von dieser soeben nur kurz beschriebenen *Spirochaete pinnae* unterscheidet sich sehr wesentlich in der Größe und in der Gestalt die *Spirochaete Hartmanni*. In der Länge mißt sie ca. 6–14 μ , in der Breite nur Bruchteile von 1 μ . Ihre Bewegungen sind die für die Spirochäten charakteristischen: sich schrauben- und korkzieherartig windend und peitschend. Die beiden Enden sind fein zugespitzt, in den Präparaten sind diese Fortsätze als Ausläufer des Periplasts zu erkennen. Die undulierende Membran ist am lebenden Tiere manchmal zu sehen, in den Präparaten stellt sie sich als schmaler Saum dar. Die Zahl der Windungen, die ganz regelmäßig verlaufen, aber auch, wie bei *Spirochaete media*, mit größeren und kleineren Windungen abwechseln können, richtet sich nach der Größe des Tieres.

Sowohl in dem trocken konservierten Material, als auch in dem feucht konservierten treten mit Giemsa- oder mit Hämatoxylinfärbung

1) Keysseltz, G., Ueber die undulierende Membran bei Trypanosomen und Spirochäten. (Arch. f. Protistenk. Bd. X. 1907. Heft 1).

feine Chromatinkörnchen im Plasma hervor (Fig. 14 u. 24). Ein Kernstab hebt sich häufig deutlich vom Periplast ab, was besonders gut an den beiden Enden zu erkennen ist (Fig. 21, 22 u. 23). Die Teilung erfolgt, wie bei den anderen Spirochäten, durch Längsspaltung (Fig. 24).

Anfangs glaubte ich, vielleicht diese kleine Spirochäte in einen Zusammenhang mit der größeren *Spirochaete pinnae* bringen zu müssen. Ein näheres Studium überzeugte mich aber bald, daß wir zwei sehr verschiedene Formen vor uns haben. Die *Spirochaete pinnae* gehört zu den den Trypanosomen am nächsten stehenden *Spirochaete* *Balbani* und *anodontae*, während die *Spirochaete Hartmanni* in die Gruppe der *Spirochaete pallida*, *dentium*, *media* etc. zu stellen ist.

Hamburg, Mai 1908.

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren wurden unter Zuhilfenahme eines Winkelschen Mikroskops (Fluoritsystem hom. Imm. 1,8 mm Komp.-Ok. 4) gezeichnet. Vergrößerung 930:1.

Fig. 1—13. *Spirochaete pinnae*.

Fig. 1. Schmales Individuum mit Kernstab.

Fig. 2. Zerfall des Kernstabes.

Fig. 3. Chromatinkörner zu Vierergruppen geordnet, undulierende Membran.

Fig. 4. Protoplasma Knopf. Das Chromatin hat sich an einer Stelle gesammelt (Degenerationsform oder Geschlechtsform). Geißelartiger Fortsatz vom Blepharoplasten aus.

Fig. 5. Protoplasma Knopf.

Fig. 6. Eingerollte Form (Ruhestadium).

Fig. 7. Mazerierte Spirochäte, undulierende Membran aufgefasert, Fibrillen.

Fig. 8—10. Schmale Form mit gut entwickelter Membran (männlich?).

Fig. 11. Involutionsform (?).

Fig. 12. Zwei eng aneinanderliegende Spirochäten (männliche und weibliche Form?). Kopulation.

Fig. 13. Längsteilung, doppelte Membran.

Fig. 14—24. *Spirochaete Hartmanni*.

Fig. 18. Undulierende Membran.

Fig. 21. Kernstab, Periplastfortsätze.

Fig. 24. Längsteilung.

Nachdruck verboten.

Spirochétiase des poules déterminée à Lausanne avec *Argas persicus* Fischer de Tunisie.

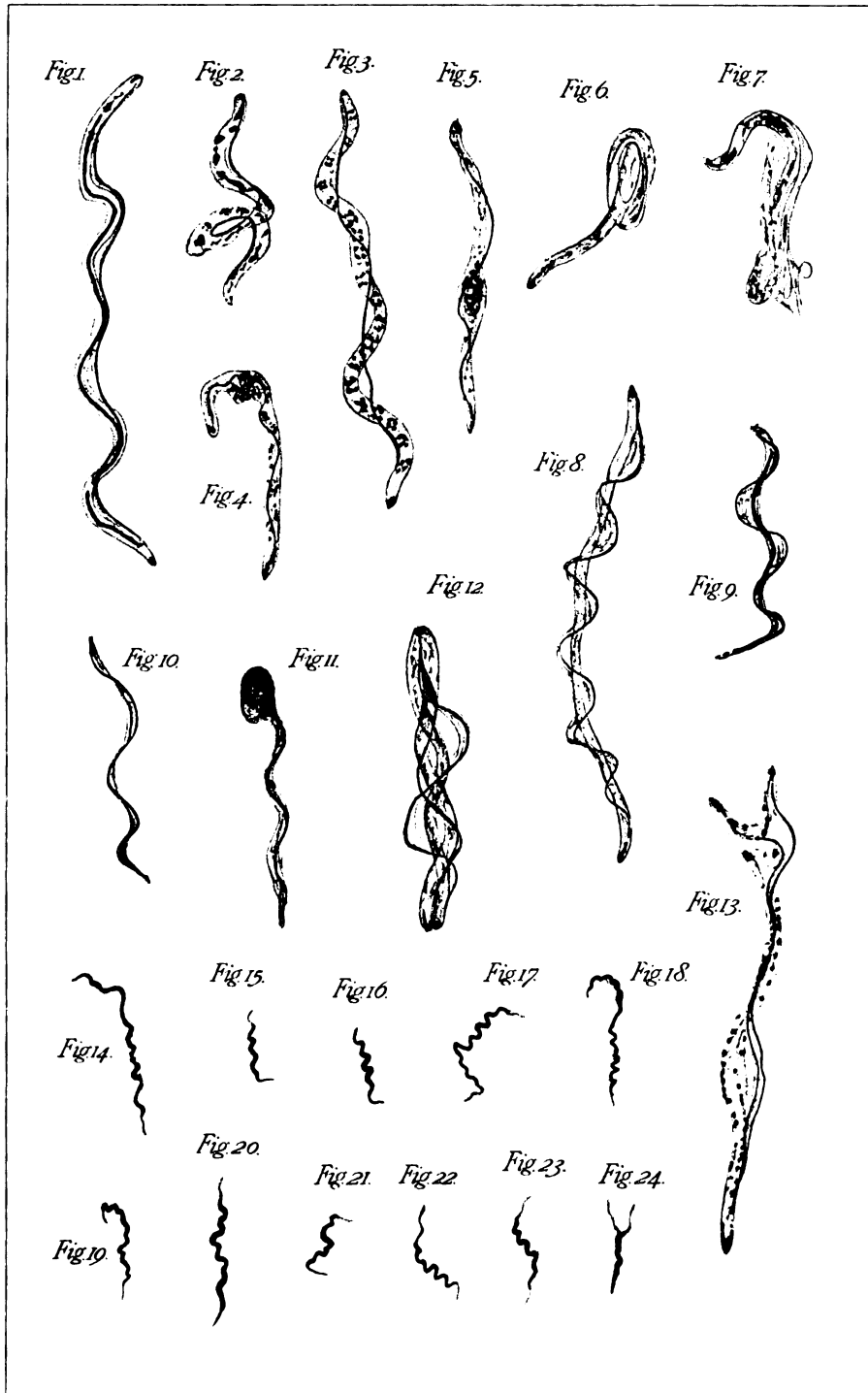
[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Note préliminaire.

Par B. Galli-Valerio.

En 1907 ayant trouvé à Kairouan (Tunisie)¹⁾ un exemplaire d'*Argas persicus*. Fischer, j'avais pensé à la possibilité d'une transmission de spirochétiases par ce parasite. J'avais alors prié M. le Dr. Santschi de Kairouan, de vouloir bien m'envoyer à Lausanne des exemplaires d'*A. persicus* dès qu'il en trouverait de vivants. Ce n'est que le 7 mai 1908 que j'ai reçu de M. le Dr. Santschi plusieurs exemplaires

1) Bull. de la Soc. Vaud. des sciences nat. T. XLII. 1907. p. 201.



d'A. persicus vivants, qu'il avait trouvé à Dratamar près de Kairouan, le 3 mai 1908.

J'ai divisé ces Argas en plusieurs lots et j'ai appliqué 4 de ces lots sur une poule, respectivement le 9, 12, 14 et 16 mai. Le 19 mai, cette poule présentait plumes hérissées, somnolence, diarrhée et élévation de la température. A l'examen du sang à frais et après coloration, j'ai constaté une infection massive à spirochètes.

Cet expérience, dans les détails de laquelle j'entrerai dans un travail complet sur la question, démontre:

1° Qu'une spirochétiase des poules existe en Tunisie où, jusqu'à maintenant elle n'avait jamais été signalée.

2° Que l'agent de transmission de cette spirochétiase est, sans aucun doute, *Argas persicus*, car des exemplaires de cette espèce envoyés à Lausanne, où la spirochétiase des poules n'existe pas, ont pu infecter une poule. Un travail complet suivra, dès que les nouvelles expériences que je suis en train de faire, seront terminées.

Lausanne, 29 mai 1908.

Nachdruck verboten.

Der *Oxyuris vermicularis* in seiner Beziehung zur Darmwand und Appendicitis.

[Aus dem pathologischen Institut der Universität Genf, Prof. Max .
Askanazy.]

Von Dr. **Franz Unterberger**,
derz. Assistenten der Universitäts-Frauenklinik zu Rostock.

Mit 1 Figur.

Während man früher allgemein annahm, daß die Darmparasiten des Menschen im Darmlumen als harmlose Schmarotzer vom Kot und den darin noch enthaltenen Nährstoffen lebten, hat man jetzt für eine Reihe von Nematoden ihre mehr oder weniger innige Beziehung zur Darmwand nachgewiesen. Vom *Oxyuris vermicularis* ist dieser Beweis noch nicht in einer allgemein befriedigenden Weise erbracht worden.

Der erste, der *Oxyuris vermicularis* in der Darmwand nachwies, war Wagener. Er fand bei einem 5-jährigen Mädchen, das an Scharlachsepsis gestorben war, in drei Peyer'schen Platten „zerstreut ungefähr 15—20 kleinste, bis stecknadelkopfgroße, halbkugelig vorspringende, grauweißliche Knötchen, die sich bei der Berührung mit einer feinen Sonde wie Sandkörnchen anfühlten“. Zur mikroskopischen Untersuchung wurden die Stücke nach vorheriger Entkalkung in Haug'scher Flüssigkeit in Paraffin eingebettet und in Serien geschnitten. Auf mehreren Präparaten gelang es nun Wagener inmitten der verkalkten Bindegewebskapsel *Oxyuris vermicularis* noch gut erhalten nachzuweisen; in andern Körnchen, wo die Verkalkung schon weiter fortgeschritten war, „waren die Parasiten bis zur Unkenntlichkeit verändert“.

Die Frage, „ob sich die Tierchen aktiv durch das normale Darmepithel hindurch in die Follikel gebohrt haben, vermag er nach den mikroskopischen Bildern nicht mit Sicherheit zu entscheiden“.

Diese Befunde Wagener's wurden von Edens in einer kurzen Mitteilung bestätigt. Es handelte sich in seinem Fall ebenfalls um die

oben beschriebenen Knötchen in den Peyerschen Platten. Auch ihm gelang der Nachweis von *Oxyuris vermicularis* inmitten von Detritusmassen. Das Ganze war von einer verkalkten Kapsel umgeben.

In seiner zweiten diesbezüglichen Veröffentlichung konnte W a g e n e r zu seinem ersten Fall noch zehn weitere hinzufügen, bei welchen er Oxyuren in Kalkknötchen innerhalb der Peyerschen Platten finden konnte. Wie mühsam diese Untersuchungen sind, geht daraus hervor, daß er unter rund 1000 Schnitten nur in etwa 10 Schnitten Gebilde antraf, „die mit Sicherheit als Teile eines Parasiten anzusprechen waren“.

In allen bisher erwähnten Fällen handelte es sich jedoch um abgestorbene Parasiten, die im Gewebe innerhalb einer verkalkten Zone eingeschlossen waren. Außerdem erwähnte aber W a g e n e r auch einen Fall, der einen lebenden *Oxyuris* betraf, welcher sich tief in die Schleimhaut des Processus vermiformis eingebohrt hatte. Bei der Wichtigkeit dieser Beobachtung lasse ich diesbezügliche Stelle wörtlich folgen: „Bis jetzt ist es mir einmal gelungen, einen lebenden, in die Darmwand sich einbohrenden *Oxyuris* zu finden. Bei einem 5-jährigen Knaben lagen auf der Schleimhaut des völlig durchgängigen Processus vermicularis 4 weibliche Oxyuren. Gerade diese Stelle zeigte umschriebene stärkere Gefäßfüllung, die sich von der sonst blassen Schleimhaut scharf abhob. Bei genauester Betrachtung konnte man nur ein ganz winziges, feines, weißes Fädchen sehen, das in die Schleimhaut sich einsenkte und wie ein gefüllter Chyluskolben aussah. Erst bei seitlicher Betrachtung unter Flüssigkeit in einem flachen Schälchen konnte man das ganze Schwanzende deutlich flottieren sehen. Es handelte sich um ein etwas älteres *Oxyuris* weibchen, das zu zwei Drittel bis drei Viertel seiner Länge sich so tief in die Schleimhaut des Processus vermiformis eingebohrt hatte, daß nur noch ein ganz kleiner Teil des Schwanzendes mit dem weißlich glänzenden Uterus herausragte.“

Das interessante Präparat wurde wegen der Seltenheit in toto aufgehoben und es mußte daher die mikroskopische Untersuchung unterbleiben, die allein uns über die Beziehung von *Oxyuris vermicularis* zu eventuellen Veränderungen der Darmwand genaueren Aufschluß hätte geben können. Darum sah sich W a g e n e r auch jetzt noch zu dem Bekenntnis gezwungen: „Ob die Oxyuren in die völlig intakte oder in eine geschädigte und weniger widerstandsfähige Darmschleimhaut eindringen, habe ich auch diesmal nicht feststellen können.“

Angesichts der alsbald zu erwähnenden, in der Literatur ausgesprochenen Zweifel über die Invasion des *Oxyuris* in die Darmwand, wäre eine mikroskopische Untersuchung der Schleimhaut sehr wünschenswert gewesen. Denn man könnte bei den alten, verkalkten Parasiten vielleicht einwenden, daß sie nur in eine durch Eiterung oder dergleichen erweichte Peyersche Platte hineingekrochen sind, wie sie in den Kotbrei hineinzukriechen vermögen, und gerade darum in dem entzündeten Terrain abgestorben sind, ein Einwand, den W a g e n e r selbst erhoben hat.

Daß gerade der Processus vermiformis ein Lieblingsaufenthalt von *Oxyuris vermicularis* ist, wurde schon von Zenker nachgewiesen, eine Tatsache, die heute nicht allgemein bekannt zu sein scheint. Bei dem Suchen nach der Ursache der Blinddarmentzündung hat man darum neuerdings auch den *Oxyuris vermicularis* beschuldigt, oft die Ursache der Blinddarmentzündung zu sein. Man spricht von Reizung der Schleimhaut des Wurmfortsatzes durch die schlängelnden, lebhaften Bewegungen des kleinen Parasiten und dergleichen mehr, ohne sich jedoch

der Mühe zu unterziehen, einmal bei reichlicher Anwesenheit der Oxyuren im übrigen Darm den Appendix in Serien zu schneiden und des Näheren die Beziehungen der Oxyuren zur Darmwand nachzuprüfen. Ich gehe wohl nicht fehl, wenn ich annehme, daß die allgemein verbreitete Ansicht auch heute noch die ist, der *Oxyuris vermicularis* stehe nicht in Beziehung zur normalen Darmwand. Ich finde diese Vermutung durch Oppe (1903) bestätigt, der sich darüber in folgender Weise äußert: „Der *Oxyuris* lebt nur im Darminhalt und hakt sich nicht in die Schleimhaut ein.“ Auch Peiper macht in einem Referat in „Ergebnisse der allgemeinen Pathologie“ Lubarsch-Ostertag, IX, II. Abt., 1905, hinter der Bemerkung, Vuillemin behaupte, die Oxyuren seien im stande, die Darmmucosa zu durchdringen, ein Fragezeichen. Uebrigens geht Vuillemin noch weiter und behauptet sogar, daß die Oxyuren die ganze Darmwand zu durchdringen vermögen. Ich komme darauf noch im weiteren Verlauf meiner Arbeit zurück.

Da diese Zweifel noch letzthin geäußert sind, und überhaupt Veröffentlichungen darüber, ob der lebende *Oxyuris vermicularis* in die normale Darmschleimhaut einzudringen vermag, zur Zeit noch ausstehen, so leistete ich um so lieber der Anregung meines hochverehrten Chefs, Herrn Prof. Max Askanazy, Folge, diesbezügliche Untersuchungen vorzunehmen.

Das mir zur Verfügung gestellte Material stammte von drei Sektionen aus Königsberg i. Pr., bei denen sich reichlich Oxyuren vorgefunden hatten. Die Darmstücke waren ohne jede Säuberung vom Kot in Sublimat resp. Formalin fixiert und in Alkohol gehärtet. Zur Einbettung diente teils Celloidin, teils Paraffin.

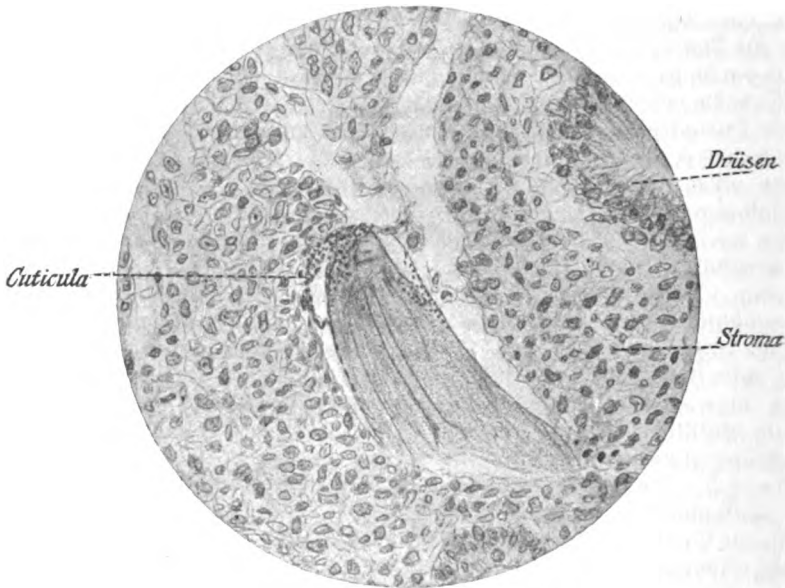
Fall 1. Es waren Stücke vom Duodenum, Jejunum, Ileum und Colon aufgehoben. Trotz Durchmusterung von Hunderten von Schnitten aus diesen Partien konnten keine Parasiten in der Schleimhaut gefunden werden. Lediglich auf den Colonschnitten fand man in der die normale Schleimhaut überziehenden Schleimschicht reichlich *Oxyuris vermicularis*, meist quer, seltener schräg getroffen. Niemals konnte man ein Eindringen der Parasiten in die Mucosa nachweisen.

Fall 2. Zur Untersuchung waren von einer Kinderleiche Coecum und Appendix aufbewahrt worden. Der Processus vermiformis bot äußerlich keine Besonderheiten dar. Er wurde unaufgeschnitten in einzelnen Partien in Celloidin eingebettet und in Serien geschnitten.

Das mikroskopische Bild zeigte einen völlig normalen Wurmfortsatz; nirgends waren irgendwelche frische oder alte Anzeichen einer Entzündung nachzuweisen. Das Lumen war frei durchgängig, der darin befindliche Schleimpfropf füllte nur einen kleinen Teil der Oeffnung aus. In allen Schnitten ließen sich reichlich Oxyuren im Lumen nachweisen. Auf einer ganzen Reihe von Schnitten aber gelang es mir, mit absoluter Sicherheit *Oxyuris vermicularis* in der normalen Darmschleimhaut meist quergetroffen nachzuweisen. Der Parasit hatte die Mucosa zur Hälfte oder zwei Dritteln ihrer Dicke durchdrungen. Die ihn umgebende Schleimhaut bot in keiner Weise die Zeichen einer Entzündung dar. Nirgends waren polynukleäre Leukocyten im Gewebe anzutreffen, geschweige denn Ulcerationen der Schleimhaut vorhanden. Die *Oxyuris vermicularis* in der Mucosa waren in der Gegend der durch die Auftreibung der Cuticula charakterisierten Mundöffnung und des Oesophagus getroffen. Alle diese Teile waren anscheinend sehr lang ausgezogen. Einen in der Mucosa eingebetteten Quer-

schnitt durch die weiter nach hinten gelegenen Parteen, z. B. durch den Uterus der Parasiten konnte ich in meinen Schnitten nicht finden. Diese Teile befanden sich stets in der Lichtung des Appendix. Eine Lagebeziehung der Parasiten zu dem Lumen der Schleimhautdrüsen war nicht zu konstatieren.

Daß es sich in diesem Falle lediglich um Oxyuren handelte und um keine anderen Darmparasiten, geht aus den Schnitten mit Sicherheit hervor (s. Abbildung).



Kopfteil eines *Oxyuris vermicularis* in der normalen Schleimhaut des Appendix.

Fall 3. Zur Untersuchung gelangten Coecum mit Appendix und Genitalorgane eines 9-jährigen Mädchens.

Auf Schnitten gelang es mir in diesem Falle nur ein einziges Mal, das Eindringen eines *Oxyuris vermicularis* in die Schleimhaut des Appendix anzutreffen. (Dieser Processus wurde nicht in Serien geschnitten.) Auch hier zeigte die Schleimhaut keine Entzündungserscheinungen. Sehr interessant waren aber anderweitige Veränderungen an der Schleimhaut. An Stellen, wo Quer- oder Längsschnitte der Oxyuren in einer Vertiefung der Mucosa lagen, zeigte letztere gangartige Eindrücke mit glatten, rundlichen Randkonturen. Es fragt sich, ob der Wurm hier nur tiefe Dellen in die Schleimhaut eingepreßt hat, gleich den Moulagen, die Guiart in der Darmschleimhaut, durch den Kopf des *Ascaris* hervorgerufen, feststellte. Oder ob hier ein Wurm in der Mucosa gelegen hatte, und die oberflächliche Schleimhautbedeckung abgerissen und verloren gegangen ist, vielleicht erst post mortem des Wirtes. In jedem Falle verrät sich auch hier die intime Lagebeziehung zur Mucosa.

In den Genitalorganen, speziell in den Tuben, konnte ich weder makroskopisch noch auf Schnitten Oxyuren nachweisen.

Leider stand mir zur Untersuchung des Rectums kein Material zur Verfügung.

Der Nachweis, daß der *Oxyuris vermicularis* nicht nur als harmloser Schmarotzer im Kot lebt, sondern sich analog den anderen Nematoden mit seinem Kopfteil in die Schleimhaut des völlig normalen Darmes einzubohren imstande ist, dürfte somit, wie ich glaube, in einwandsfreier Weise erbracht sein. Vorbedingung für positive Befunde ist, daß das Material möglichst frisch fixiert wird, da die Parasiten nach dem Tode ihres Wirtes sehr bald die Schleimhaut zu verlassen scheinen (vergl. Fall 1), ähnlich wie es Askanazy für den *Trichocephalus dispar* bewiesen hat.

Es drängt sich uns jetzt die Frage auf: Was veranlaßt die Parasiten, in die Schleimhaut sich einzubohren? Die ganze Organisation des *Oxyuris vermicularis* spricht dafür, daß er seine Nahrung wenigstens teilweise per os zu sich nimmt, infolgedessen erscheint die Annahme gerechtfertigt, daß er seine Nahrungsstoffe aus der Darmwand bezieht. Welcher Art dieselben sind, kann ich freilich nicht sagen. Blut bzw. Hämoglobin scheint es jedenfalls nicht zu sein, da jede Eisenreaktion mit Ferrocyankalium-Salzsäure ausbleibt. Dies ist seiner Zeit schon von Askanazy betont worden, Edens konnte dasselbe bestätigen und auch meine diesbezüglichen Untersuchungen fielen negativ aus.

Auf Fetttröpfchen, wie sie im Leib der in der Dünndarmschleimhaut nistenden Entozoen (*Strongyloides* etc.) demonstriert sind, konnte ich nicht untersuchen, da die Darmstücke nicht nach Flemming oder Marchi fixiert waren; es ist ja auch für die im Dickdarm stationierten Parasiten unwahrscheinlich.

Endlich könnte man fragen, ob die Parasiten nicht zur Eiablage in die Darmwand eindringen, wie der *Strongyloides* zu diesem Zwecke die Darmwand aufsucht. In diesem Sinne könnte der Fall von Ruffer aufgefaßt werden, der im Rectum eines 35-jährigen Ägypters mehrere kleine, verschieden große Knötchen fand. Er beschreibt dieselben folgendermaßen: „The mucous membrane covering these tumours and the elevations above noticed was quite intact, and there was no sign of congestion, inflammation or ulceration around the tumors. The peritoneal wall of the intestine showed no special adherences.“ Die mikroskopische Untersuchung zeigte inmitten einer verkalkten Bindegewebskapsel ein amorphes, gelbbraunes Pulver mit zahlreichen typischen Eiern von *Oxyuris vermicularis*. Die Eier waren „quite normal, and contained embryos showing no signs of degeneration whatever.“

Ich muß die Beantwortung dieser Frage offen lassen; es dürfte auf diesen Punkt weiter zu achten sein.

Von hohem Interesse ist nun, speziell auch für die Beziehungen zwischen *Oxyuris vermicularis* und Appendicitis, das Verhalten der Schleimhaut gegenüber dem Eindringen des Parasiten. Eigentlich sollte man Entzündungsvorgänge oder bei gleichzeitigem Import von Bakterien gar kleine Abszesse und Geschwürsbildung erwarten. Allein nichts von alledem ist anzutreffen. Wie aus der Beschreibung meiner Präparate ersichtlich, findet man nicht die geringste Spur einer Reaktion, nicht einmal eine leichte Rundzelleninfiltration in der Schleimhaut. Auch dieser Befund deckt sich mit früheren, die Askanazy bereits bei anderen Darmparasiten erhoben hat und durch größere Verwandtschaft der lebenden Tierzellen und menschlichem Gewebe vermutungsweise zu erklären suchte. Das Fehlen von ausgesprochenen Reaktionserscheinungen spricht dafür, daß die Parasiten sich nicht lange an derselben Stelle

aufhalten. Vielleicht findet ein abwechselndes Ein- und Auswandern statt.

Ich halte diese Beobachtung für von einschneidender Bedeutung, speziell ungemein wichtig für die Beantwortung der Frage, ob der Parasit instande ist, eine Appendicitis zu erzeugen. Bekanntlich rät Metschnikoff auf Grund seiner Beobachtungen bei akuter Blinddarmentzündung, bei denen er Eier von *Oxyuris vermicularis* im Stuhl nachweisen konnte und die er mit Santoninbehandlung heilte, daß man in jedem Falle von Appendicitis den Stuhl auf Parasiteneier untersuchen solle. Ihm wurde seinerzeit von Maignon entgegengehalten, daß er in China im Zeitraum von $4\frac{1}{2}$ Jahren nur einen Fall von Appendicitis zu Gesicht bekommen hätte, trotz ungemeiner Häufigkeit der Eingeweidewürmer. Ich kann dazu als Analogon aus eigener Erfahrung anführen, daß hier in Genf die Blinddarmentzündungen mindestens ebenso häufig sind wie in Königsberg i. Pr., obwohl man hier auffallend selten Parasiten im Darm bei den Sektionen findet, im krassen Gegensatz zu Königsberg, wo der *Oxyuris vermicularis* und ganz besonders der *Trichocephalus dispar* ungemein häufig vorkommen.

Sprechen also schon diese lokalen Verschiedenheiten gegen die Verallgemeinerung der Annahme Metschnikoffs, um wieviel mehr noch der mikroskopische Befund bei meinen Präparaten! Wenn ich also den *Oxyuris vermicularis* im allgemeinen nicht für die Entstehung der Blinddarmentzündung verantwortlich machen will, so bedarf es doch einer gewissen Einschränkung. Immerhin besteht die Möglichkeit, daß bei Anwesenheit resp. vermehrter Anwesenheit pathogener Mikroorganismen im Darmkanal diese gelegentlich einmal mit dem Kopfteil des Parasiten in die Darmwand eindringen und hier ihr Zerstörungswerk beginnen. Die Regel scheint es aber nicht zu sein. Fälle, die klinisch Anzeichen einer zum Teil recht schweren Appendicitis darbieten, und bei denen man nichts weiter fand als Oxyuren im äußerlich normalen Processus mit etwas geschwollener Schleimhaut, sind von Schiller, v. Meyer, Oppe, Morokowitien u. A. beschrieben worden.

Eine weitere Frage ist nun die: Können die Oxyuren die Darmwand vollkommen durchbohren? Eine Frage, die von Vuillemin aufgeworfen und in bejahendem Sinne beantwortet ist. Der oft zitierte Fall von Vuillemin betrifft einen 11-jährigen Jungen, der seit mehreren Monaten an Oxyuren litt. Bei demselben trat 3 cm vom Anus entfernt ein nußgroßer Abszeß auf, in dem sich reichlich Oxyurenweibchen vorfanden. Irgend eine Ulzeration an der Mastdarmschleimhaut oder der äußeren Haut waren nicht zu konstatieren, es fanden sich lediglich kleine Ecchymosen in der Rektalschleimhaut. Auf Grund dieses Befundes kommt Vuillemin zu der Behauptung, die Parasiten wären durch die Rektalschleimhaut gewandert und hätten den Abszeß verursacht.

Ich halte den Beweis für nicht sicher erbracht, vielmehr möchte ich zunächst Schneider beistimmen, der eine primäre Analfistel annimmt mit sekundärem Einwandern der Oxyuren. Daß Vuillemin nur Weibchen gefunden hat, besagt meines Erachtens nichts. Die Kopulation erfolgt aller Wahrscheinlichkeit nach im Ileum, Coecum und Appendix, worauf die Männchen sehr bald absterben. Daher kommt es wohl, daß wir im Stuhl selten Männchen von *Oxyuris vermicularis* finden, während die Weibchen zur Eiablage auswandern. Andererseits kann man auch bei genauerer Untersuchung mit Hilfe eines Spekulum leicht einen feinen Fistelgang in den Falten der Mastdarmschleimhaut

übersehen, während ihn die Parasiten, die ja überhaupt eine Vorliebe für enge Kanäle zu haben scheinen, mit Leichtigkeit auffinden.

Aus den bisherigen Studien über das Eindringen der Parasiten in die Darmwand läßt sich entnehmen, daß damit ein Zweck oder mehrere Ziele angestrebt werden. Was soll die Parasiten veranlassen, die ganze Darmwand zu perforieren? Gehen sie doch damit ihrem Untergange entgegen. Das scheinen mir die Fälle zu beweisen, wo man Oxyurenweibchen in Bindegewebe eingekapselt im Beckenperitoneum, besonders im Douglasschen Raum gefunden hat. Der erste solche Fall wurde von Chiari in der Prager medizinischen Gesellschaft demonstriert und von Kolb genauer beschrieben. Der zweite Fall wurde von Schneider veröffentlicht. In beiden Fällen handelte es sich um Frauen, bei denen die eingekapselten Oxyuren gefunden wurden. Ich selbst habe ein solches Knötchen (Sammlung von Prof. Askanazy) durchmustert, das im Innern eine große Zahl von Oxyureneiern inmitten einer körnig nekrotischen Masse erkennen ließ. Neuerdings hat Strada aus Chiaris Institut noch einen weiteren analogen Fall beschrieben, wo sich auf der Hinterseite des Uterus im Douglasschen Raum 3 weibliche, harte Knötchen vorfanden. Es handelte sich, wie die mikroskopische Untersuchung ergab, um eingekapselte reife Oxyurenweibchen.

Man hat, da diese Fälle ausnahmslos Frauen betrafen, die Ansicht geäußert, die Oxyuren wären durch die weiblichen Genitalien in den Douglasschen Raum gelangt. Und dazu glaubte man eine gewisse Berechtigung zu haben, da Oxyuren schon in verschiedenen Teilen des weiblichen Genitalapparates gefunden sind. Heller sah ein Oxyurenweibchen im Scheidengewölbe, Simons entfernte aus dem Cervikalkanal zwei weibliche Exemplare, Vix (zit. nach Kolb) fand Eier von *Oxyuris* im Uterus. Bei der Gelegenheit möchte ich betonen, daß in vielen Fällen von Anwesenheit der Parasiten in den weiblichen Genitalien heftige Reizzustände beobachtet wurden, im Fall von Spitzer, wo sich ein Knäuel Oxyuren in der Scheide eines 13-jährigen Mädchens vorfand, waren sie derart heftig, daß die Eltern an Notzucht und gonorrhöische Infektion dachten.

Wie es scheint, hält man die Einwanderung der Parasiten durch die weiblichen Geschlechtsorgane bis in den Douglasschen Raum bereits für bewiesen. Ich möchte hierzu nur bemerken, daß zurzeit der Nachweis eines *Oxyuris vermicularis* in der Tube noch nicht geglückt ist. Der Fall von Marro betrifft nur eine *Oxyuris*-Eier enthaltende Cyste auf der Tube, ist also kein Beweis. Ich konnte im Fall 3 auch mikroskopisch keine Oxyuren in den Tuben nachweisen; jedoch halte auch ich den Weg durch die Genitalorgane der Frau ins Cavum Douglasii für den wahrscheinlichsten. Ausschlaggebend wäre natürlich der Befund solcher Knötchen im Beckenperitoneum des Mannes; ein positiver Befund wäre dann ein Beweis für die Annahme Vuillemins.

Ob die eingekapselten *Oxyuris*-Eier in diesen Douglas-Knötchen noch lebensfähig sind und wie lange sie es bleiben, müssen weitere Untersuchungen festzustellen suchen. Im allgemeinen scheint es sich um verirrte *Oxyuris*-Weibchen gehandelt zu haben, sonst müßte man bei der Häufigkeit der Oxyuren diese Knötchen öfter zu Gesicht bekommen.

Fasse ich jetzt noch kurz die Resultate meiner Untersuchungen zusammen, so ergibt sich, daß der *Oxyuris vermicularis* in die normale Darmmucosa einzudringen befähigt ist. Die Schleimhaut zeigt

gegenüber dem eindringenden Parasiten keine nennenswerte Reaktion. Ob der *Oxyuris* die ganze Darmwand zu perforieren vermag und warum bisweilen die Eiablage in der Darmwand erfolgt, müssen weitere Untersuchungen klarlegen.

Nachtrag.

Nach Abschluß meiner Arbeit finde ich noch in der Deutsch. med. Wochenschr. Jg. XXXIII. 1907. No. 43. p. 1780—1782 einen Aufsatz von Hippius und Lewinson: „*Oxyuris* und Appendix“. In dem Fall dieser beiden Autoren fanden sich sehr zahlreiche *Oxyuren* im Lumen und in der Wand des exstirpierten Appendix, neben schweren mit Geschwürsbildung einhergehenden Wandveränderungen. Dabei ist das tiefe Vordringen der Würmer bis gegen die Serosa beachtenswert. Man könnte auch hier einwenden, daß primär die Ulzerationen der Schleimhaut bestanden haben und die *Oxyuren* erst sekundär eingewandert sind. Allein, nachdem jetzt der Nachweis erbracht ist, daß der *Oxyuris vermicularis* auch in die normale Schleimhaut einzudringen befähigt ist, möchte ich diesen Fall so deuten, daß die schweren Zerstörungen durch die Mitarbeit der Parasiten hervorgerufen sind. Die ausgedehnten Schleimhautveränderungen lassen sich wohl so erklären, daß bei der großen Menge der die Darmwand angreifenden Würmer eher Gelegenheit zu einer Gewebsinfektion und ulzerösen Appendicitis gegeben ist.

Literatur.

- Askanazy, M., Der Peitschenwurm ein blutsaugender Parasit. (Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LVII.)
- , Ueber Art und Zweck der Invasion der *Anguillula intestinalis* in die Darmwand. Chiari, Verein dtscher Aerzte in Prag. Sitz. 14. Febr. 1902. Prag. med. Wochenschr. Bd. XXVII. 1902. No. 19.
- Edens, Ueber *Oxyuris vermicularis* in der Darmwand. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. p. 499.)
- Guiart, Rôle pathogène de l'*Ascaride lombricoïde*. (Arch. de Parasitol. T. III. 1900. No. 1. p. 70.)
- Heller, Ueber *Oxyuris vermicularis*. (Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXVII. 1903. p. 21—28.)
- Kolb, Ueber den Befund von auf dem Peritoneum des Cavum Douglasi angewachsenen *Oxyuriden*. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXI. 1902. p. 268.)
- Marro, Sopra una cisti impiantata sulla salpinghe contenente uova di *Oxyuris vermicularis*. (Arch. per le scienze med. Vol. XXV. No. 8. p. 161.)
- Matignon, Helminthiasis und Appendicitis. (Acad. de méd. Paris. Séance 26 mars 1901. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 22. p. 910.)
- Metschnikoff, Berl. klin. Wochenschr. 1901. p. 842.
- v. Meyer, Ein seltener Fall von akuter Entzündung des Wurmfortsatzes und dadurch bedingter Inkarzeration des Dünndarms. (Beitr. z. klin. Chir. Bd. XXXIV. 1902. p. 85.)
- Oppe, Appendicitis und Eingeweidewürmer. (Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 20.)
- Peiper, Tierische Parasiten. (Ergebn. d. allg. Pathol. u. pathol. Anat. v. Lubarsch-Ostertag. Bd. IX. Abt. II. p. 232.)
- Ruffer, Note on the lesions produced by *Oxyuris vermicularis*. (Brit. med. Journ. Vol. I. 1901. p. 208.)
- Schiller, Beiträge zur pathologischen Bedeutung der Darmparasiten, besonders für die Perityphlitis. (Beitr. z. klin. Chir. Bd. XXXIV. 1902. p. 197.)
- Schneider, *Oxyuris vermicularis* im Beckenperitoneum eingekapselt. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. p. 550.)
- Schöppler, Eier von *Oxyuris vermicularis* L. im Wurmfortsatz. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. p. 453.)
- Simons, Entozoen in der Gebärmutter. (Centralbl. f. Gynäk. 1899. p. 777.)
- Spitzer, *Oxyuris vermicularis* in forensischer Beziehung. (Wien. med. Wochenschr. 1892. p. 6.)

- Strada, Sulla presenza di Oxyuridi incapsulati nella cavità peritoneale. (Arch. per le scienze med. Vol. XXXI. 1907. No. 21.)
- Vuillemin, Sur la pénétration des femelles d'Oxyuris vermicularis à travers les parois de l'intestin. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. p. 358.)
- Wagener, Oxyuris vermicularis in der Darmwand. (Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXI. 1904. p. 328.)
- , Weitere Untersuchungen über Oxyuris vermicularis in der Darmwand des Menschen. (Virchows Arch. Bd. CLXXXII. Heft 1. p. 145.)
- Zenker, Tagebl. d. 42. Vers. deutscher Naturf. u. Aerzte. 1868.

Nachdruck verboten.

Kommt der bei der aktiven Immunisierung auftretenden negativen Phase eine Bedeutung im Sinne einer erhöhten Empfänglichkeit des vaccinierten Individuum zu?

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. R. Pfeiffer).]

Von **R. Pfeiffer** und **E. Friedberger**.

Wenn der bekannten Seitenkettentheorie Paul Ehrlichs einerseits ein sehr hoher heuristischer Wert auf dem Gebiete der Immunitätslehre zuzusprechen ist, so ist es andererseits auch nicht verwunderlich, daß in einzelnen Punkten das Bestreben der Erklärung rätselhafter Immunitätsvorgänge mit Hilfe dieser Theorie zu gewissen Irrtümern und falschen Schlußfolgerungen führen mußte.

Es ist klar und ergibt sich ohne weiteres aus den Beziehungen, die zwischen den bindenden Gruppen der Antigene und den Antikörpern bestehen, daß mit der Injektion von antigenem Material in den Organismus eines Tieres die teilweise Bindung der im Blut zirkulierenden homologen Antikörper erfolgen kann, einerlei ob es sich da nun um die normalen Antikörper oder die auf der Höhe einer Immunisierung reichlich aufgespeicherten Immunantikörper handelt.

In diesem Sinne sah zuerst Ehrlich (1) bei seinen klassischen Ricinversuchen, daß die erste Wirkung der Ricininjektion in einer Verminderung des im Blute der Tiere befindlichen Antiricins bestand.

Brieger und Ehrlich (2) haben dann weiterhin die aufgerollte Frage einer systematischen Prüfung unterzogen. Sie sahen bei einer gegen Tetanusgift hochgradig immunisierten Ziege den Antitoxingehalt der Milch jedesmal nach einer neuen Injektion von Tetanusgift bedeutend heruntergehen und sich erst allmählich wieder auf resp. über die frühere Höhe erheben. Die Verhältnisse bei der Milchsekretion und dem Uebergang der Antikörper in die Milch sind noch so wenig geklärt und dürften so verwickelte sein, daß die Versuche auf das Verhalten der Antikörper im Blute selbst nicht ohne weiteres zwingende Schlüsse gestatten. Hier setzen nun die Untersuchungen von Salomonsen und Madsen (3) ein. Sie verglichen bei einer mit Diphtheriegift immunisierten Stute die Milchkurve mit der Serumkurve und konnten zwar die analogen Befunde erheben, wie Brieger und Ehrlich, jedoch war der Abfall des Antitoxingehaltes nach der Immunisierung in der Milch stets ein bedeutend höherer als im Blut.

Gleichfalls eine Verarmung des Blutes an Antikörpern infolge der Immunisierung beobachteten dann Jörgensen und Madsen (4) be-

zöglich der Typhusagglutinine, Dungern (5) bei seinen Versuchen mit Mayaplasma und Wright (6) bei seinen Immunisierungsversuchen mit Typhus, Staphylokokken und Tuberkulin bezüglich der Bakteriolyse, Agglutinine und Opsonine. Wright bezeichnet speziell diese Verminderung des Antikörpergehalts unmittelbar nach der Immunität als negative Phase.

Obwohl es sich hier also um einen von verschiedenen Seiten zuverlässig beobachteten und auch scheinbar durch die Theorie wohl begründeten Vorgang handelt, so tritt er doch keineswegs so gesetzmäßig auf, wie das Wright annimmt, demzufolge das Gesetz der negativen Phase „allgemein die Produktion antitroper Substanzen regelt, mit anderen Worten als ein allgemeines Gesetz der Immunität anzusehen ist“.

Pfeiffer und Marx (7) haben bei Kaninchen, die mit sehr hohen Dosen abgetöteter Cholera Bakterien subkutan vorbehandelt waren, keinen Abfall der bakteriziden Schutzwerte des Blutes beobachtet.

Auch Ehrlich hat in seinen Versuchen mit Morgenroth (8) über die Immunisierung eines Ziegenbocks mit Hammelblut selbst nach der Injektion von 350 ccm Blut kein Absinken des Hämolysegehalts des Serums im Anschluß an die Injektion beobachtet. Die abweichenden Versuche von Bulloch (9) bei der Behandlung von Kaninchen mit großen Dosen von Ochsenblut sind, wie der Autor selbst angibt, auf eine Verarmung des Blutes an Komplement im wesentlichen zurückzuführen, welche auch von Sachs (10) als Folge der Vorbehandlung mit fremdem Blut beobachtet und näher studiert worden ist.

Auch Morgenroth (11) beobachtete bei seinen Antilabversuchen ein Fehlen der negativen Phase. Er nimmt an, daß dieses eine Folge der Bindung des Laes durch das Unterhautzellgewebe (starke Infiltrate nach der Injektion) ist.

Auch nach Talquist (12) fehlte bei seinen Versuchen mit der Immunisierung von Kaninchen gegenüber Vibriolysin die negative Phase.

Wir sehen also, daß das von Wright postulierte Gesetz keineswegs allgemeine Gültigkeit besitzt und auch da, wo es in Erscheinung tritt, nicht restlos durch die Annahme, daß im Kreislauf eine Bindung zwischen Antikörper und Antigen stattfindet und dadurch eine Verarmung des Blutes an Antikörpern erfolgt, seine Erklärung findet; denn Salomonsen und Madsen haben gezeigt, daß da, wo die negative Phase eintritt, wie bei ihren Diphtherieantitoxinversuchen der Abfall des Antitoxingehaltes ein bedeutend höherer ist, als es der durch das neu eingeführte Gift neutralisierbaren Antitoxinmenge entspricht. Wir haben hier offenbar sehr verwickelte und keineswegs in so einfacher Weise erklärbare Vorgänge. Immerhin haben die ersterwähnten Resultate, welche unter gewissen Umständen eine Verarmung des Blutes an Antikörpern unmittelbar nach der Immunisierung dartaten, dazu verleitet, diese negative Phase auf Grund der erwähnten Laboratoriumsversuche auch für die Praxis der Typhusschutzimpfung beim Menschen als wichtig anzunehmen, und Wright speziell vertritt die Anschauung, daß die Vaccinierung, sofern nicht ganz kleine Dosen verwendet werden, jedesmal von einer erhöhten Empfänglichkeit des Individuums gegenüber Typhus begleitet ist, die eben in der negativen Phase zum Ausdruck kommt. Er empfiehlt deshalb, ein Vorgehen, dem sich Gaffky, Kolle, Hetsch, Kutscher (13) anschließen, die Schutzimpfungen bei Truppen geraume Zeit vor dem Termin vorzunehmen, zu welchem sie im Felde

der Typhusinfektion ausgesetzt sind. Es würde dies eine Einschränkung bedeuten, welche die praktische Brauchbarkeit der Typhusschutzimpfungen überhaupt in Frage stellt.

Unterziehen wir die quantitativen Verhältnisse bei den Tierversuchen, auf welche sich Wright und seine Anhänger stützen, nun einer näheren Kritik, so ergibt sich, daß die zum Zweck einer planmäßigen Höchstimmunisierung der Tiere gegebenen Dosen der Gifte resp. der Bakterien unvergleichlich viel höher sind als jene, welche wir dem Menschen zum Zwecke der Schutzimpfung einzuverleiben pflegen. So haben Ehrlich und Brieger in ihren vorerwähnten Versuchen der Ziege, bei der sie den Abfall des Antitoxingehalts in der Milch konstatierten, vorher volle 75 ccm Tetanustoxin verabfolgt.

Salomonson und Madsen gaben ihrer Stute jedesmal 1 Liter (!) Diphtherietoxin. Auch Jörgensen und Madsen injizierten Dosen bis zu 100 ccm Bouillonkultur des Typhusbacillus. Ebenso behandelte Dungern die Tiere, wie er angibt, mit großen Dosen von Mayaplasma.

Es ist unter solchen Umständen weiter nicht verwunderlich, wenn ein beträchtlicher Abfall des Antikörpergehalts im zirkulierenden Blut eintritt. Es handelt sich übrigens ausschließlich um Versuche bei bereits immunisierten Tieren. Nun will allerdings Wright beim Menschen auch nach Injektion relativ kleiner Dosen des Impfstoffes eine Art von negativer Phase bereits im Anschluß an die erste Vaccination beobachtet haben. Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß die Bestimmung der bakteriziden Kraft von Wright ausschließlich im Reagenzglas vorgenommen wurde und somit keineswegs den Anforderungen entspricht, die wir, namentlich nach den Untersuchungen von Töpfer und Jaffé (14) an eine exakte Auswertung des Sera zu stellen haben. Einwandfrei bezüglich der Methodik sind dagegen die Versuche von Kutscher und Hetsch, die in der sorgfältigen Arbeit aus dem Berliner Institut für Infektionskrankheiten gleichfalls das Bestehen einer negativen Phase auf Grund ihrer Impfungen annehmen. Von einem regelmäßigen Vorkommen des Phänomens kann aber nicht die Rede sein, denn die Autoren schreiben selbst, daß sie diese Erscheinung bei der Bestimmung der bakteriziden Werte nur „mitunter“ gesehen haben. Das Phänomen trat bei ihnen in keinem Falle im beträchtlichen Grade als Folge der ersten Impfung auf (Verarmung des Blutes an normalen Antikörpern), wenigstens war in keinem Falle 7 Tage nach der Injektion der Titer geringer, in den meisten Fällen bedeutend höher, als es der Norm bei den betreffenden Individuen entsprach, obwohl die von den Autoren gegebenen Dosen für Menschen relativ hohe waren. Ein Abfallen des Titors im Sinne der negativen Phase wollen sie dagegen in gleicher Weise wie die vorerwähnten Autoren bei den Tierversuchen im Verlaufe der Immunisierung auch am Menschen beobachtet haben, derart, daß nach der zweiten Impfung der Titer zuweilen geringer war, als nach der ersten. Wenn wir nun die von den Autoren mitgeteilten Fälle daraufhin uns näher ansehen, so ergibt sich, daß eine negative Phase bezüglich der Bakteriolysen zwar in einigen Fällen nicht zu verkennen ist, aber der Unterschied im Titer, 7 Tage nach der ersten Injektion und 7 Tage nach der zweiten Injektion, ist doch nur ein ganz minimaler und kann sehr wohl auch bei dem Auswertungsmodus im Tierversuch innerhalb der Versuchsfehlergrenze liegen. Wir sehen da z. B. bei Fall 2 der Tabelle, daß der Titer nach der ersten Injektion nur 1 : 200, nach der zweiten Injektion 1 : 100

betrug, gegenüber Stamm W; aber gegenüber einem anderen Stamm 150 war der Titer in beiden Fällen der gleiche.

In einem anderen Fall (3) ist bezüglich der Bakteriolyse mit Stamm W eine deutliche Vermehrung des Titers, bei Stamm 151 eine Verminderung zu verzeichnen. Auch mit der Agglutination zeigt die Bakteriolyse keine Kongruenz. Bei Fall 3 ist nach der zweiten Injektion, wie soeben erwähnt, gegenüber Stamm W ein bedeutendes Ansteigen des Titers bezüglich der Bakteriolyse zu verzeichnen, bezüglich der Agglutination eine ausgesprochen negative Phase. So haben wir in diesen Versuchen von Hetsch und Kutscher das paradoxe Bild, daß ein und dasselbe Serum, gewonnen vom Menschen, nach wiederholter Vaccination gegen verschiedene Stämme ausgewertet, bei dem einen Stamm eine positive, beim anderen eine negative Phase zeigt und daß bei demselben Stamm bezüglich des bakteriolytischen Titers eine Steigerung bezüglich der Agglutination eine Abnahme zu Tage tritt. Es ist klar, daß im übrigen bei der geringen Differenz zwischen den einzelnen Werten diese sehr wohl durch die Versuchsfehlergrenzen und andere Momente bedingt sein können und daß Kolle und seine Mitarbeiter auf Grund dieser Versuche keineswegs zu der Vorstellung gezwungen wurden, der negativen Phase eine besonders große Rolle zuzuschreiben. Nun sollen allerdings die gewiß ausschlaggebenden Erfahrungen der Praxis ergeben haben, daß unter den frisch Geimpften die Mortalität an Typhus eine erhöhte ist. Doch sind die Zahlen von Wright und den deutschen Beobachtern, auf die sich diese Anschauung stützt, viel zu klein, um bindende Schlüsse zu gestatten. Aber selbst wenn wir die Existenz einer negativen Phase annehmen, im Sinne einer Verarmung des Blutes an Antikörpern unmittelbar noch der Impfung, so ist damit noch immer nicht eine erhöhte Empfänglichkeit des geimpften Individuums gegenüber der Infektion bedingt.

Wright begeht den Fehler, daß er Verarmung des zirkulierenden Blutes an Antikörpern und Herabminderung der Widerstandskraft gegenüber Infektionen für identisch, oder das eine als notwendige Konsequenz des anderen ansieht. Nun ist allerdings der Gehalt des zirkulierenden Blutes an Antikörpern als ein Maßstab der Immunität zu betrachten. Aber die bakteriolytische Fähigkeit des zirkulierenden Blutes ist wohl kaum die einzige Ursache der Immunität und es braucht eine geringe Abnahme dieser Schutzstoffe nicht notwendig zu einer erhöhten Empfänglichkeit des Organismus zu führen.

Es ist auffallend, daß keiner der zahlreichen Autoren, die sich seither mit der negativen Phase beschäftigt haben, Tierversuche in der Richtung angestellt hat, ob mit großen Impfstoffdosen vaccinierte Versuchstiere, bei denen doch zu allererst eine vorübergehende Verarmung des Blutes an Antikörpern eintreten muß, nun auch wirklich in diesem Zeitraum erhöhte Empfänglichkeit gegenüber der Injektion aufweisen, wie sie als Folge der Typhusschutzimpfung beim Menschen, ohne daß ein stringenter Beweis bis heute erbracht worden wäre, immer wieder behauptet wird. Bei der Wichtigkeit dieser Frage für die Praxis der Immunisierung und bei der hohen Bedeutung, welche dank der guten Erfolge der letzten Jahre die Schutzimpfung des Menschen gegen Typhus mehr und mehr gewinnt, sind wir daran gegangen, die Lösung dieser Frage durch den Tierversuch näherzutreten.

Wir versuchten festzustellen, ob Meerschweinchen nach der Vorbehandlung mit abgetöteten Bakterien in Mengen, welche die für die

Vaccinierung des Menschen in Frage kommenden um ein vielfaches übertreffen, wirklich eine erhöhte Empfänglichkeit gegenüber der in kurzen Zeitintervallen nachfolgenden Infektion zeigen. Zur Vorbehandlung verwandten wir Kulturen von Typhus und Cholera und zur Infektion dieselben Bakterienarten. Die von uns benutzte Typhuskultur hatte eine Virulenz von $\frac{1}{4}$ Oese, die Cholerakultur von $\frac{1}{10}$ Oese.

Die Tiere wurden subkutan mit bei 60° abgetöteten Bakterien, d. h. also einem Impfstoffe, der dem von Pfeiffer und Kolle, sowie dem von Wright entspricht, vorbehandelt und erhielten nach einiger Zeit Mengen der lebenden virulenten Bakterien intraperitoneal, welche nur wenig die Dosis letalis minima übertrafen. Gleich schwere und unter den gleichen Bedingungen gehaltene Kontrolltiere erhielten die gleiche Bakteriendosis ohne Vorbehandlung mit abgetöteten Bakterien. Eine derartige Versuchsreihe zeigt die nachfolgende Tabelle:

Tabelle I.

Eine Reihe von Meerschweinchen von 190—210 g erhalten an der Seite unter dem Rippenbogen in je 1,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung 2,4 Oesen Cholera (bei 60° abgetötet). Nach 36 Stunden werden die Tiere subkutan mit gleich schweren Kontrollen mit virulenter lebender Cholera intraperitoneal infiziert. Dosis des Virus $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{8}$ Oese in den einzelnen Versuchsreihen.

Ueber die Wirkung der Vaccineinspritzung auf den Verlauf der Infektion gibt die nachstehende Zusammenstellung Aufschluß:

No. des Tieres	Gewicht	Virusdosis für die intraperitoneale Infektion in Oesen	Verlauf der Infektion		
			nach $1\frac{1}{2}$ Std.	nach 4 Std.	nach 24 Std.
378	205	$\frac{1}{8}$	zahlr. Vibr., beginnende Granulabildung	abgelaufen	abgelaufen, Tier munter
379	195	$\frac{1}{8}$	do.	sehr spärlich Vibr. viel Leukocyten	+ Perit. mikr. steril
Kontr. 384	200	$\frac{1}{8}$	mehr Vibr.	massenhaft Vibr.	+ Vibr. massenhaft in Reinkultur
380	200	$\frac{1}{8}$	etwa wie 378	abgelaufen	abgelaufen, Tier munter
381	200	$\frac{1}{8}$	do.	vereinzelte Vibr.	do.
Kontr. 385	200	$\frac{1}{8}$	mehr Vibr.	massenhaft Vibr.	+ Vibr. massenhaft in Reinkultur
882	210	$\frac{1}{8}$	spärlich Vibr. u. Granula	vereinzelte Vibr.	abgelaufen, Tier munter
383	190	$\frac{1}{8}$	verunglückt	(Tier ausgeschieden)	(Tier ausgeschieden)
Kontr. 386	200	$\frac{1}{8}$	mehr Vibr. als 382	massenhaft Vibr.	+ Vibr. massenhaft in Reinkultur

Aus diesen Versuchen ergibt sich mit unbedingter Sicherheit, daß die mit abgetöteten Bakterien vorbehandelten Tiere, 36 Stunden später, weit davon entfernt gegenüber der Infektion empfänglicher zu sein, vielmehr bereits eine ausgesprochene Schutzkraft aufweisen, gegenüber dem Multiplum der Bakteriendosis, welcher die Kontrolltiere sicher erliegen.

Gegen die Versuche dieser Tabelle I sind jedoch noch folgende Einwendungen möglich: Die Zeit von 36 Stunden, die zwischen der Vaccinierung und der nachfolgenden Infektion verstrichen ist, ist vielleicht schon zu lang, so daß also die Infektion zu einer Zeit erfolgt ist, zu der die negative Phase bereits abgelaufen wäre.

Ferner wäre der Einwand möglich, daß die Injektion an der Seite unter dem Rippenbogen zu nahe der Bauchdecke erfolgt sei, sodaß die

entstandene Entzündung sich vielleicht nach dem Peritoneum fortgepflanzt und dort eine lokale Resistenz erzeugt haben könnte, wie sie ja nach den Untersuchungen von Pfeiffer und Issaëff (15) bei Einspritzung der verschiedensten Substanzen in das Bauchfell, im Sinne einer nicht spezifisch erhöhten Widerstandskraft des Tieres eintritt. Das relativ hohe Flüssigkeitsvolum von 1,2 ccm, in dem das Vaccin in den Versuchen aufgeschwemmt war, könnte in diesem Sinne einen begünstigenden Einfluß haben. Es wurde daher eine der vorigen analogen Versuchsanordnung mit folgenden Modifikationen angestellt.

Die Infektion erfolgte bereits 12 Stunden nach der Vaccinierung. Die Dosis des Impfstoffes wurde möglichst ferne vom Peritoneum, nämlich am Nacken und in einem möglichst kleinen Volum von Flüssigkeit, nämlich 0,2 ccm, injiziert. Den Verlauf dieser Versuchsreihe zeigt die folgende Tabelle II.

Tabelle II.

Versuchsanordnung wie Tab. I unter Innehaltung der eben angeführten Modifikationen:

No. des Tieres	Vaccination	Gewicht	Virusdosis für die intraperitoneale Infektion in Oesen	Verlauf der Infektion		
				nach 1½ Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
389	ja	200 g	1/8	viel Vibr. spärlich Granula	massenhafte Vibr.	+ massenh. Vibr.
390	„	200 „	1/8	ebenso, doch viel Leukocyten	do.	massenh. Vibr. + nach 36 Std.
395	Kontr.	200 „	1/8	sehr viel Vibr.	do.	+ massenh. Vibr.
391	ja	200 „	1/8	mäßig zahlr. Vibr. (4—5 im Gesichtsfeld)	zahlreiche Vibr. u. Granula	massenh. Vibr. + nach 36 Std.
392	ja	200 „	1/8	do.	viel Leukocyten, wenig Vibr.	abgelaufen
396	Kontr.	200 „	1/8	viel Vibr.	massenhaft Vibr.	+ massenh. Vibr.
393	ja	200 „	1/8	mäßig zahlr. Vibr.	spärlich Vibr., viel Leukocyten	abgelaufen
394	„	200 „	1/8	do.	ziemlich zahlr. Vibr.	abgelaufen
397	Kontr.	200 „	1/8	mehr Vibr. als 394	massenhaft Vibr.	+ massenh. Vibr.

Die in dieser Versuchsreihe den Meerschweinchen von 200 g gegebene Dosis Impfstoff entsprach etwa 4,8 mg Kulturmasse, das ist also pro Kilogramm Tier 25 mg und auf den Menschen von 70 kg berechnet, eine Impfdosis von $24 \cdot 70 = 1680$ mg feuchter Bakteriensubstanz, d. h. (eine Agarkultur zu 20 mg gerechnet) 84 volle Agarkulturen; das ist aber das 840-fache derjenigen Dosis, welche man dem Menschen als Durchschnittsdosis zu geben pflegt.

Wenn derartig enorme Vaccindosen keine erhöhte Empfänglichkeit beim Versuchstier auslösen, sondern vielmehr im Gegenteil eine deutlich verstärkte Widerstandskraft gegen die Infektion bewirken, so läßt sich nicht annehmen, daß die von Wright und anderen in vitro beobachtete negative Phase wirklich als Ausdruck einer erhöhten Empfänglichkeit aufzufassen ist.

Fragen wir nun nach der Ursache dieses schnellen Auftretens von Schutzkräften bei vaccinierten Tieren, so liegt es nahe, die erhöhte Schuttschimpfung auf eine Art spezifische Schnellimmunisierung im Sinne von P. Th. Müller (16) zu beziehen. Jedoch sprechen die nunmehr mitzuteilenden Versuche nicht für eine derartige Deutung.

Wenn man nämlich die Tiere mit Typhus anstatt mit Cholera vorbehandelt, so zeigen sie gleichfalls sehr bald einen erhöhten Schutz nicht nur gegenüber Typhus, sondern auch gegenüber der Cholerainfektion.

Tabelle III.

Versuchsanordnung wie in Tab. II. Nur wurden die Tiere statt mit Cholera mit Typhusvaccin vorbehandelt (1 Oese Typhus 60° in 0,2 ccm Kochsalzlösung subkutan am Nacken) und 18 Stunden nachher zum Teil mit Cholera, zum Teil mit Typhus intraperitoneal infiziert:

No. des Tieres (200 g)	Vaccination mit Typhus	Virusdosis für die intra- peritoneale Infektion in Oesen	Verlauf der Infektion	
			nach 4 1/2 Std.	nach 24 Std.
398		1/5 Cholera	viel Vibrionen	ziemlich zahlreiche Bak- terien, massenh. Leuko- cyten, † nach 48 Std.
399	Kontrolle	1/5 "	wenig Vibrionen, Granula	abgelaufen
410		1/5 "	massenhaft Vibrionen	† massenhaft Vibrionen
400		1/5 "	abgelaufen, spärlich Granula	abgelaufen, massenhaft Leukocyten
401		1/5 "	wenig Vibr., viel Leuko- cyten	do.
411	Kontrolle	1/5 "	massenhaft Vibrionen	† massenhaft Vibrionen
402		1/5 "	viel Leukocyten, spärlich Vibrionen	abgelaufen, massenhaft Leukocyten
403		1/5 "	abgelaufen, viel Leuko- cyten	do.
412	Kontrolle	1/5 "	massenhaft Vibrionen	† massenhaft Vibrionen
			nach 6 1/2 Std.	nach 24 Std.
404		1/5 Typhus	vereinzelte Bakterien, viel Leukocyten	abgelaufen, massenhaft Leukocyten
405	Kontrolle	1/5 "	do.	do.
413		1/5 "	massenhaft Bakterien, keine Leukocyten	† massenhaft Bakterien
406		1/4 "	spärlich Bakterien, viel Leukocyten	abgelaufen, massenhaft Leukocyten
407	Kontrolle	1/4 "	do.	do.
414		1/4 "	wie 413	† massenhaft Bakterien
408		1/5 "	wie 406	abgelaufen, massenhaft Leukocyten
409	Kontrolle	1/5 "	do.	do.
415		1/5 "	ziemlich viel Bakterien, wenig Leukocyten	do.

Aus dieser Tabelle geht mit Evidenz hervor, daß nicht ein rapides Auftreten der spezifischen Antikörper die Ursache des erhöhten Schutzes der vaccinierten Tiere ist, vielmehr muß es sich um ein Analogon des von Pfeiffer und Isaëff entdeckten Phänomens der nicht spezifischen Resistenz handeln. Diese Autoren sahen bekanntlich, daß nach dem Einspritzen verschiedener Substanzen in das Peritoneum der Meer-schweinchen (abgetötete Bakterien, Urin, Bouillon, Tuberkulin usw.) die so vorbehandelten Tiere einen erhöhten Schutz gegen die nachherige intraperitoneale Infektion zeigten. Wir wissen andererseits, daß dieser von den Autoren als Resistenz bezeichnete Zustand nicht nur bei intra-peritonealer Vorbehandlung sich in der Bauchhöhle geltend macht, sondern in, wenn auch schwächeren Weise, bei subkutaner Applikation des Schutz-stoffes, so daß also die Resistenz nicht nur als eine lokale Zustandsverände-

rung des Bauchfelles, sondern als allgemeine Reaktion des Körpers aufzufassen ist und eintritt, einerlei, ob man die resistenzerhöhende Substanz am Orte der nachherigen Infektion oder davon entfernt eingespritzt hat.

Erst nach Injektion geradezu enormer Mengen des Impfstoffes, welche auf den Menschen von 70 kg berechnet, etwa 400 Agarkulturen entsprechen, sehen wir, daß innerhalb der ersten 6 Stunden nach der Vaccinierung eine Resistenzerhöhung bei den Tieren fehlt oder doch nicht regelmäßig auftritt, was in Anbetracht der starken Endotoxinvergiftung

Tabelle IV.

Versuchsanordnung wie in Tab. III, nur wurde eine bedeutend größere Dosis des Typhusvaccins (20 mg) in 0,5 Kochsalzlösung subkutan gegeben.

Diese Zeiten zwischen Vaccination und Impfung variieren in den einzelnen Versuchsreihen (s. Tab.)

Zeitdauer zwischen Vaccination und Infektion: 6 Stunden.

No. des Tieres	Gewicht in g	Zeit und Dosis des Vaccins in Milligramm (Typhus)	Zeit u. Dosis des Virus für die intra-peritoneale Infektion in Oesen	Verlauf der Infektion	
				nach 3 Stunden	nach 24 Std.
628	200	5. Dez. 9,30 a. m. 10	3,45 p. m. $\frac{1}{10}$ Cholera	ziemlich viel Bakterien	+ massenhaft Vibr.
629	200	10	do.	spärlich Bakterien und Granula	+ Peritoneum mikr. steril
636	210	Kontrolle	do.	sehr viel Bakterien	+ wie 628

Zeitdauer zwischen Vaccination und Infektion: $9\frac{1}{2}$ Stunden

No. des Tieres	Gewicht in g	Zeit und Dosis des Vaccins in Milligramm (Typhus)	Zeit u. Dosis des Virus für die intra-peritoneale Infektion in Oesen	Verlauf der Infektion		
				nach 2 Std.	nach 15 Std.	nach 36 Std.
630	200	5. Dez. 9,30 a. m. 10	7 Uhr p. m. $\frac{1}{10}$ Cholera	zieml. viel Vibr.	spärlich Vibr., viel Leukocyten	abgelaufen
631	200	10	do.	do.	viel Vibr.	+ mikroskop. Perit. steril
637	230	Kontrolle	do.	do.	vereinzelte Vibr.	abgelaufen

Zeitdauer zwischen Vaccination und Infektion: 26 Stunden

No. des Tieres	Gewicht in g	Zeit und Dosis des Vaccins in Milligramm (Typhus)	Zeit und Dosis des Virus für die intraperitoneale Infektion in Oesen	Verlauf der Infektion	
				nach $4\frac{1}{2}$ Std.	nach 24 Std.
632	200	5. Dez. 9,30 a. m. 10	6. Dez. 11,45 a. m. $\frac{1}{10}$ Cholera	spärlich Vibrionen, Granula	viel Leukocyten, spärlich Vibr. + in 48 Std.
633	200	10	do.	fast abgelaufen	abgelaufen
643	200	Kontrolle	do.	viel Vibrionen	+ mit massenh. Vibr.

Zeitdauer zwischen Vaccination und Infektion: 98 Stunden

634	200	5. Dez. 9,30 a. m. 10	9. Dez. 12 Uhr $\frac{1}{10}$ Cholera	fast abgelaufen, vereinzelte Vibrionen	+ mikrosk. Perit. steril
635	200	10	do.	abgelaufen	abgelaufen
644	200	Kontrolle	do.	massenh. Bakterien	+ massenhaft Vibr.

ohne weiteres verständlich ist. Aber auch in solchen outrierten Fällen macht sich nach 9 $\frac{1}{2}$ Stunden schon eine erhöhte Widerstandskraft gegenüber der Infektion deutlich geltend.

Mit den Reserven, die bei der Uebertragung der Resultate des Tierversuchs auf die Verhältnisse beim Menschen selbstverständlich sind, können wir soviel sagen; da unter absolut identischen Bedingungen beim Tiere eine erhöhte Empfänglichkeit gegenüber der Infektion unmittelbar nach der Schutzimpfung nicht zu verzeichnen ist, sondern im Gegenteil eine Steigerung der Resistenz, so ist auch beim Menschen im unmittelbaren Anschluß an die Schutzimpfung eine Steigerung der Empfänglichkeit für die Infektion wenig wahrscheinlich. Die Furcht vor der negativen Phase, welche der praktischen Verwertung der Typhusschutzimpfungen vielfach hinderlich war, erscheint nach diesen Versuchen als übertrieben.

Literatur.

- 1) Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr. 1891.
- 2) Brieger u. Ehrlich, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XIII. 1893.
- 3) Salomonsen u. Madsen, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897.
- 4) Jørgensen u. Madsen, Festschrift ved indvielsen af Statens Serum Institut Kopenhagen 1902.
- 5) v. Dungern, Die Antikörper. Jena 1903.
- 6) Wright, Lancet 1901. Proceeding Royal Society vol. Bd. LXXIV. 1904.
- 7) Pfeiffer u. Marx, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXVII. 1898.
- 8) Ehrlich u. Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. Bd. I u. XXII. 1899.
- 9) Bulloch, Trans. of Path. Soc. of London. 1901 u. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXIX. 1901.
- 10) Sachs, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1903.
- 11) Morgenroth, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXVI. 1899.
- 12) Talquist, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LVIII. 1908.
- 13) Gaffky, Kolle, Hetsch, Kutscher, Klin. Jahrb. Bd. XVI. 1905.
- 14) Töpfer u. Jaffe, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. 1906.
- 15) Pfeiffer u. Isaëff, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVI. 1894.
- 16) Müller, P. Th., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIV. 1903.

Nachdruck verboten.

Zur Abwehr.

Von L. v. Liebermann.

Ich war erstaunt, in Heft 4. p. 337 dieses Centralbl. eine Tatsache geleugnet zu finden, von deren Richtigkeit ich mich seit meinen fast vor Jahresfrist gemeinsam mit B. v. Fenyvessy publizierten Versuchen¹⁾ wieder unzählige Male überzeugt hatte.

Ich erkläre daher alles, was Kurt Meyer in bezug auf unsere Versuche mitgeteilt hat, für unrichtig.

Es ist unrichtig, daß sich Kurt Meyer an unsere Versuchsanordnung oder Versuchsbedingungen gehalten hätte. Vor allem hat er nicht Schweineblutkörperchen verwendet wie wir, sondern Hammelblut, mit dem wir nie gearbeitet haben. Auch sonst hat er unsere Angaben vielfach unberücksichtigt gelassen. Es ist unnötig, des weiteren auszuführen, warum dies bei Nachprüfungen prinzipielle Fehler sind.

1) Arch. f. Hygiene. Bd. LXII. p. 322.

Es ist unrichtig, daß wir es irgendwo an der nötigen Kontrolle fehlen ließen.

Es ist unrichtig, daß die von uns isolierten Immunkörper nicht spezifisch wären.

Es ist endlich auch unrichtig, daß diese Körper in so geringer Menge erhalten wurden, daß von ihrer Isolierung nach „chemisch-analytischen Grundsätzen“ nicht gesprochen werden kann.

Eine weitere Kritik der in Rede stehenden Mitteilung scheint mir überflüssig, da die folgende Arbeit von mir und B. v. Fenyvessy, nebst neuen Tatsachen, eine auf eingehende und sehr sorgfältige Arbeit fußende Bestätigung der von uns früher publizierten Tatsachen bringt.

Nachdruck verboten.

Erwiderung auf die Abwehr v. Liebermanns

Von Dr. Kurt Meyer.

Die „Abwehr“ v. Liebermanns richtet sich in erster Linie gegen meine an seiner früheren Mitteilung geübte Kritik. Ich bemerke hierzu folgendes:

Ich habe nur davon gesprochen, daß in den mitgeteilten, sonst recht ausführlichen Versuchsprotokollen v. Liebermanns — naturgemäß konnte ich nur die darin angeführten Versuche berücksichtigen — das Fehlen wichtiger Kontrollen auffiel.

Tatsächlich fehlen in den mitgeteilten Protokollen Kontrollen bezüglich der Spezifität und der Ambozeptornatur des isolierten Hämolysins, sowie der Nachweis, daß die behandelten Blutkörperchen nicht mehr mit Hämolysin beladen waren.

Tatsächlich beschränkt sich ferner in den mitgeteilten Protokollen der Nachweis des isolierten Hämolysins auf einen geringen Bruchteil der Ausgangsmenge.

In der mitgeteilten Form berechtigten demnach die Versuche v. Liebermanns zu einer Kritik.

Die Verwendung von Hammelblut statt Schweineblut bei meinen Versuchen bedeutet allerdings eine Abweichung in der Versuchsanordnung. In der Bewertung des Unterschiedes stimme ich jedoch, da es sich doch wohl um Tatsachen von allgemeinerer Gültigkeit handeln soll, mit v. Liebermann nicht überein. Andere Abweichungen meiner Versuchsanordnung sehe ich nicht.

Sollte v. Liebermann in der in Aussicht gestellten Arbeit nunmehr unzweideutige Beweise für die Richtigkeit seiner Anschauungen beibringen und damit eine so wichtige Tatsache einwandfrei sicherstellen, so darf ich hierin vielleicht mit einem Erfolg meiner Kritik erblicken.

Anmerkung bei der Korrektur. In seiner inzwischen erschienenen Arbeit (dieses Centralbl. Bd. XLVII. p. 274) hat v. Liebermann in der Tat alle von mir erhobenen Forderungen berücksichtigt und damit selbst ihre Berechtigung anerkannt.

Nachdruck verboten.

Zwei neue Agglutinationsmethoden.

[Aus dem chemisch-bakteriolog. Laboratorium von Dr. St. Serkowski in Warschau.]

Von Dr. T. Wretowski, Warschau.

Mit 1 Figur.

Seit der Zeit, wo die Serodiagnostik in der Reihe der bakteriologischen Methoden, welche die Erkennung verschiedener septischer Erkrankungen erleichtern, eine hervorragende Stelle eingenommen hat, bemühte man sich, ihre technische Anwendung auf verschiedene Weise zu vereinfachen. Man wandte verschiedene Methoden zur Erhaltung von Untersuchungsmaterialien in der Gestalt von Serum an, man führte statt der lebenden Mikroorganismen entsprechend vorbereitete Emulsionen aus früher getöteten Bakterien, Diagnostica genannt, ein, wobei noch verschiedene Modifikationen zur Herstellung von Verdünnungen anempfohlen wurden.

Die Untersuchungen, welche zahlreiche Verfasser ausgeführt haben, betreffen hauptsächlich nur die Agglutination *in vitro*, ich dagegen habe mir die Aufgabe gestellt, Hilfsmittel zu finden, welche nur in solchen Fällen nützlich sein könnten, wo z. B. zu wenig Blut zur Durchführung der serodiagnostischen Untersuchung vorhanden ist oder wo der Kranke sich in der Provinz, weit von dem Laboratorium entfernt, befindet, und wo man nur schwer eine Untersuchung vornehmen kann.

Als ich die Literatur, welche die serodiagnostischen Untersuchungen behandelt, durchging, lenkte ich meine Aufmerksamkeit besonders auf Fließpapier und Watte als Materialien, die sich vollkommen zur Aufnahme des Blutes eignen. Die Mittel, welche ich im folgenden angeben werde, bringen eigentlich nichts Neues, dürften aber die Aufmerksamkeit auf dies bisher nicht genügend ausgenutzte Gebiet lenken.

Die Aufnahme des Blutes vermittelt Fließpapier. Das Blut von Personen, welche an Typhus litten oder der Krankheit erlegen waren, vermittelt Fließpapier, haben auch Vidal und Sicar, Johnston und Pick, Richardson und andere mit Vorteil vorgenommen. Später versuchte man, gewisse hochagglutinierende Sera an Fließpapier eingetrocknet herzustellen. So hat Berestnieff im Jahre 1905, indem er den Untersuchungen von Schleicher, Schüller und Jacobstahl folgte, welche die Einwirkung verschiedener termischer, chemischer und biologischer Einflüsse auf das am Fließpapier eingetrocknete Serum untersucht haben, und auf Grund eigener Forschungen sogenannte hochagglutinierende Cholera-papierstreifen, welche zur Erkennung der Cholerabazillen dienen, in Umlauf gesetzt.

Das zur Blutuntersuchung verwendete Fließpapier muß chemisch rein sein, denn das gewöhnliche Fließpapier der Laboratorien enthält gewisse leimige Substanzen, was durch die Untersuchungen von Trumpp und Jacobstahl festgestellt worden ist. Zu meinen Untersuchungen gebrauchte ich nur chemisch reines Fließpapier.

Um ein gewisses beständiges Blutquantum auf dem Fließpapier zu erhalten, stellte ich Fließpapierscheibchen von 20 mm im Durchmesser her, deren Größe den Dimensionen eines auf dem Fließpapier ausge-

trockneten durchschnittlichen Blutropfens entspricht. Zur Ausführung einer serodiagnostischen Untersuchung genügen einige dieser Fließpapierscheibchen, die mit dem Blut getränkt werden, welches aus dem angestochenen Finger des behandelten Kranken gewonnen wurde. Ist man im Besitze solcher eingetrockneten Blutscheibchen, so kann man leicht alle gewünschten Verdünnungen herstellen, indem man die Scheibchen mit einem entsprechenden Quantum Flüssigkeit auslaugen läßt. Die Flüssigkeit kann aus destilliertem Wasser, physiologischer Kochsalzlösung oder aus einem normalen Serum bestehen. Dabei muß man aber beachten, daß ein Blutropfen nur 0,6 Serum enthält. Will man also eine Verdünnung im Verhältnis von z. B. 1:30 erhalten, so muß man noch 17 Tropfen Flüssigkeit zugeben, was sich leicht berechnen läßt. Zwei Scheibchen genügen also vollkommen zur Durchführung einer serodiagnostischen Untersuchung auf Typhus oder Paratyphus A und B, wenn man für jeden Fall drei Verdünnungen herstellt.

Bezüglich der Auflösungseigenschaft des Serums stimmen meine Untersuchungen mit denen von Jacobstahl vollkommen überein. Der letztere hat nämlich gefunden, daß sich bei Zimmertemperatur das Serum nach halbstündigem Eintauchen in eine physiologische Kochsalzlösung zur größeren Hälfte, nach weiteren 30 Minuten fast ganz auflöst; in 1½ Stunden gehen sämtliche Agglutinine in die Lösung über. Jacobstahl empfiehlt, zur Verdünnung das Serum eines gesunden Tieres zu verwenden, weil das destillierte Wasser oft einen Niederschlag von Globulin, welches einen Teil der Agglutinine aufnehmen soll, hervorruft. Bei meinen Verdünnungen habe ich destilliertes Wasser, physiologische Kochsalzlösung und normales Serum angewendet, wobei ich aber keine auffallenden Schwankungen beim Auftreten der Agglutination konstatiert habe. Deswegen wählte ich zu den weiteren Versuchen destilliertes Wasser oder physiologische Kochsalzlösung, welche im Laboratorium stets zur Verfügung stehen.

Ein geringes Hindernis bildet nur eine gewisse Rosa, — in einer mehr konzentrierten Lösung — starke Rotfärbung der Agglutinationsflüssigkeit, mit welcher ein Reagenzglas gefüllt ist. Ich versuchte, diesen Farbstoff, welcher sich mit dem Serum zusammen auflöst, mittelst einer Zentrifuge oder auf chemischem Wege zu beseitigen, habe mich aber überzeugt, daß sich die Flüssigkeit bei Anwendung solcher Mittel, die die Agglutination nicht stören, gar nicht entfärben läßt.

Um aber schon mit einer kleinen Menge von Serum bei einer serodiagnostischen Untersuchung auszukommen, habe ich in dieser Abhandlung jede dieser Verdünnung in Tropfen berechnet. Es ist klar, daß bei jeder Verdünnungsmethode Fehler möglich, ja unvermeidlich sind, und zwar umsomehr, als diese Fehler bei höherer Verdünnung unproportionell wachsen. Diese Fehler scheinen mir am kleinsten zu sein, wenn man eine Verdünnung Tropfenweise zusammenstellt, weil ich bei beständiger Anwendung einer langen, schmalen Pipette und möglich gleicher Kraft, beim Herausblasen der Flüssigkeit (mittelst einer entsprechenden Spritzröhre) stets aus 1 ccm. Flüssigkeit 20 Tropfen erhalten habe. Bei der üblichen Agglutinationsweise habe ich das Serum in einer Verdünnung von 1:20, d. h. 1 Tropfen Serum mit 19 Tropfen Wasser, genommen. Das Serum vom Fließpapier dagegen wurde in einer Verdünnung von 1:30 zubereitet, um aus dem Blutropfen eine größere Menge und eine klarere Verdünnung zu erhalten. Von der aus entsprechenden Bakterien gebildeten Emulsion, sowie aus einer eintägigen Bouillonkultur pflegte

ich 10 Tropfen für Verdünnungen, aus dem Fließpapier hingegen 15 Tropfen für die zurückgebliebenen Verdünnungen zu nehmen, oder dieselbe Tropfenmenge mit Abzug derjenigen, welche der Verdünnung hinzugefügt wurde. Will man eine gewisse Verdünnung herstellen, so verfährt man im Sinne

der Formel: $\frac{x}{y(z+x)}$, in welcher x der gegebenen Tropfenmenge des Verdünnungsserums, $\frac{1}{y}$ dem Verdünnungsgrade, z der hinzugefügten Reagenzmenge entspricht¹⁾. Setzt man an die Stelle der Unbekannten entsprechende Zahlen, so erhält man z. B. eine Verdünnung von 1:50, wenn man 6 Tropfen eines zwanzigfach verdünnten Serums mit 9 Tropfen Emulsion $\left[\frac{6}{20(9+6)} = \frac{1}{50} \right]$, dagegen eine Verdünnung von 1:70, wenn man 6 Tropfen gleich verdünntes Serum mit 15 Tropfen Emulsion vermischt.

Die zweite Art meines Verfahrens besteht darin, daß ich 5–10 Blutropfen aus einem mit einer Frankennadel angestochenen Finger auf ein Stück Watte sammelte und nachher einer Zentrifugalwirkung unterwarf, um das Serum abzuschneiden. Aus technischen Rücksichten erwies sich am einfachsten die Vorbereitung eines kleinen Tampons, mit einem Faden umgewickelt, welcher in eine kleine, sterilisierte Rotationseprouvette eingelegt wurde. Das Probierröhrchen wird sodann mit Watte verschlossen (s. Fig.) und am Krankenlager geöffnet, dann etwas Blut auf dem Tampon gesammelt und dieser wieder hinein und mit Watte verschlossen, jedoch so, daß ein Stück des Fadens hinausragt. Nach der Rotation, welche ca. 5 Minuten lang dauern soll, ziehen wir den Tampon mit Hilfe des Fadens heraus; am Boden setzt sich nebst dem Niederschlage auch das abgeschiedene Serum nieder.

Die Agglutinationsfähigkeit des Blutserums soll theoretisch keine prinzipielle Veränderungen erfahren. Eine ganze Reihe entsprechender Forschungen bestätigt vollkommen die Richtigkeit meiner Ausführungen. Die zu diesen Untersuchungen verwendete Watte, wie auch die übrigen Utensilien, müssen chemisch rein und sterilisiert sein.

Die Versuche, welche zur Kontrolle angestellt wurden, ob die Watte in gewissem Maße entweder agglutinierende, oder umgekehrt, die Agglutination hemmende Eigenschaften besitzt, haben negative Resultate ergeben. Diese Versuche wurden in folgender Weise durchgeführt. Die Tampons wurden zuerst in destilliertes Wasser, in physiologische Kochsalzlösung oder ins Serum eines gesunden Menschen gelegt und sodann zentrifugiert. Eine Reihe von Agglutinationen, welche mit verschiedenen Emulsionen (Em. typhi, paratyphi A und B, B. coli, B. para-



1) $\frac{x}{y}$ = der Serummenge in gegebener Lösung, hingegen $z + x$ = der gesamten Flüssigkeitsmenge.

coli, streptococci, staphylococci, *B. tuberculosis hominis* und *B. pyocyaneus*) und mit dem erhaltenen Serum durchgeführt wurden, ergaben beständig keine Spur von Agglutination. Dagegen hat eine zweite Reihe von Agglutinationsverfahren, die seinerseits nach der gewöhnlichen Methode mit Blutserum, andererseits nach unserer Methode mit Watte durchgeführt wurden, ganz gleiche positive Resultate ergeben.

Nachdem ich mich überzeugt hatte, daß es möglich ist, eine sero-diagnostische Reaktion mittelst Aufnahme des Blutes auf Fließpapier oder Watte anzustellen, habe ich eine Reihe von Versuchen mit dem Material von Kranken, welche an Typhus, Paratyphus, an Schwindsucht, Staphylo-, Strepto- und Coliämien gelitten haben, und von Neurasthenikern angestellt. Diese letzteren lieferten mir das normale Blutserum zu den Untersuchungen über die Reaktivierung des Serums. In jedem Falle sammelte ich das Blut direkt in ein Probirröhrchen, in die Watte und in das Fließpapier. Die Reihe der Verdünnungen stellte ich gleichzeitig her, jedoch separat für jede Methode. Die Verdünnungen habe ich stets von 1:50 bis 1:150 zubereitet, je nach Bedarf vergrößerte ich bei wiederholten Untersuchungen den Verdünnungsgrad bis auf 1:700.

Die Zahl der Versuche, welche zu Vergleichszwecken oft wiederholt werden mußten, beträgt über 200.

Die Probirröhrchen wurden anfangs in entsprechende Stative vertikal gestellt. Später habe ich dieselben in spezielle, von Dr. Serkowski erdachten Stative schief gestellt. Die Agglutination fällt dann deutlicher und demonstrativer aus, weil sich die Niederschläge nicht nur auf dem Boden, sondern auch auf den Wänden des Reagenzglases absetzen.

Gewöhnlich habe ich die Agglutination an dem Tage der Zustellung des Materials ausgeführt. Einen Teil der Fließpapierscheibchen versuchte ich aber, nachdem ich sie gegen Licht und Feuchtigkeit gesichert hatte, aufzubewahren, um festzustellen, wie lange man nach dieser Methode die Agglutinationsreaktion noch erhalten kann. Das Abscheiden des Serums von dem Wattebausch darf spätestens einige Stunden nach dem Einsammeln des Blutes auf die Watte geschehen; sonst trocknet das Blut ein und die Abscheidung des Serums ist nicht mehr möglich. War mir jedoch die Zahl der gesammelten Blutropfen bekannt, so bereitete ich, um das Material nicht zu verlieren, eine entsprechende Verdünnung durch Zugabe destillierten Wassers direkt auf die Watte und sonderte nach einer Stunde das Serum mit Leichtigkeit ab.

Die Versuche, eine Agglutination aus dem Fließpapier nach längerer Zeit zu erhalten, haben die erwünschten Resultate ergeben. Mehrmals gelang es mir, sogar nach Ablauf einer Woche und einmal sogar nach 12 Tage eine Agglutination zu erhalten, welche genau dieselbe Deutlichkeit wie die frühere zeigte. Jedoch trat nach 2 Wochen keine Agglutination mehr auf. Um das auf den Scheibchen eingetrocknete Serum zu reaktivieren, gebrauchte ich frisches normales Serum in entsprechender Menge, womit ich das Fließpapier benetzte. Zuerst habe ich das frische normale Serum wiederholt mit Wasser versetzt. Dieses Verfahren habe ich mehrmals angewendet.

Die Versuche mit der Reaktivierung des Serums ergaben befriedigende Resultate. Sogar nach Ablauf von 2 Wochen erhielt ich aus dem Material, welches auf dem Fließpapier aufbewahrt worden war, einigemal sehr deutliche Agglutinationen. Das Serum, welches man zur Reaktivierung gebraucht, muß unbedingt sehr frisch sein. Die Agglutination tritt dann

am häufigsten in höheren Verdünnungen ein, so z. B. für Typhus bei einer Verdünnung von 1:100.

Zur Illustrierung meiner Ausführungen diene die folgende Tabelle, welche auf Grund der protokollierten Untersuchungen zusammengestellt worden ist. Diese enthält 3 Fälle Typhus abdominalis, einen Paratyphus A und einen Paratyphus B, einen Fall von Mischinfektion

Eine Art des Leidens	N	Datum	Material	Verdünnungsgrad						Kontrolle	
				1:50	1:70	1:100	1:120	1:150	1:300	Ver- dünntes Serum 1:100	Emul- sion
Typhus abdominalis	7	7./XII. 07.	a	+	+	+	+	+		—	—
			b	+	+	+	+	+		—	—
			c	++	+	+	+	+		—	—
	18	2./I. 08.	a	—	++	+	+	+		—	—
			b	—	++	+	+	+		—	—
			c	—	++	+	+	+		—	—
		6./I. 08.	c ₁	—	+	+	+	+	+	—	—
		25./I. 08.	c ₂	—	—	—	—	—	—	—	—
	24	25./I. 08.	a	—	—	+	+	+		—	—
			b	—	—	+	+	+		—	—
			c	—	—	+	+	+		—	—
Paratyphus A	13	15./XII. 07.	a	+	+	+	+	+		—	—
			b	+	+	+	+	+		—	—
			c	++	+	+	+	+		—	—
		21./XII. 07.	c ₁	—	+	+	+	+	+	—	—
		23./XII. 07.	c ₂	—	—	+	+	+	+	—	—
			c ₃	—	—	+	+	+	+	—	—
Paratyphus B	10	8./XII. 07.	a	+	+	+	+	+		—	—
			b	+	+	+	+	+		—	—
			c	+	+	+	+	+		—	—
Sepsis B. coli et paracoli	28	15./II. 08.	a	+	+	+	+	+		—	—
			b	+	+	+	+	+		—	—
			c	+	+	+	+	+		—	—
		25./II. 08.	c ₁	—	+	+	+	+		—	—
		30./II. 08.	c ₂	++	+	+	+	+		—	—

a-Serum aus dem erstarrten Blute; b-Serum aus der Watte, c-Serum aus dem Fließpapier; c₁ und c₂-Serum aus dem Fließpapier nach Ablauf einer bestimmten Zeit; c₃ ein reaktiviertes Serum aus dem Fließpapier.

mit B. coli und B. paracoli, und einen Fall von Infektion mit Paracoli, wo die Agglutination deutlich mit den gewöhnlichen wie auch mit meinen eigenen Methoden ausgefallen ist. Außerdem enthält die Tabelle die Resultate einiger Agglutinationen aus Fließpapier, welche nach Ablauf längerer Zeit gemacht worden sind, oder aus Fließpapier, die mit Normalsera reaktiviert wurden.

Bei der Durchführung einer ganzen Reihe von Agglutinationsversuchen sind mir besonders zwei wichtige Umstände aufgefallen. Zuerst das nicht seltene Ausbleiben der Agglutination bei konzentrierteren Verdünnungen, zweitens ein sehr deutliches Auftreten derselben bei höheren Verdünnungen. Das Agglutinationphänomen für Typhus trat manchmal erst in Verdünnungen von 1:70 oder 1:100 auf, und war oft noch bei 1:300, sogar 1:500 wahrnehmbar.

Diese Erscheinung kann man auf Grund der Versuche von Eisenberg und Volk dadurch erklären, daß alle diese agglutinierenden Sub-

stanzen nach verschiedenen Systemen gebaut sind und daß die agglutinierende Substanz bei gewissen Mikroorganismen aus zwei Gruppen besteht, erstens aus einer agglutininbindenden Gruppe, welche widerstandsfähig gegen schädliche Wirkungen ist, zweitens aus einer Agglutinationsgruppe im eigentlichen Sinne dieses Wortes, welche sehr empfindlich gegen schädliche Einflüsse ist. Diejenige Agglutinine, welchen die aktiven Gruppen fehlten, nennt man Agglutinoide. Die Sera, welche die Agglutinoide nur in geringer Menge enthalten, geben in erstarrtem Zustande keine agglutinierende Reaktion. Die Reaktion fehlt dann in konzentrierteren Lösungen und tritt erst z. B. bei einer Verdünnung von 1:100 auf. Die Reihe von Verdünnungen, welche der letzteren voreilt, nennt man „hemmende Zone“. Diese Zone wird umso größer, jemeher unwirksame Agglutinine im Serum enthalten sind. In seiner Schilderung dieser paradoxalen Erscheinung deutet Karwacki darauf hin, daß bei seinen Agglutinationsversuchen dieselbe oft durch erhebliche Konzentration beeinträchtigt wurden, hingegen bei größeren Verdünnungen des Serums die Reaktion immer auftrat.

Arrhenius stimmt mit der bereits erwähnten Theorie nicht überein, er behauptet, daß es „viel einfacher wäre, anzunehmen, daß die wirksame Substanz zwei verschiedene Wirkungen auf die Zellen ausübt, von denen die eine, die bei höherer Konzentration in Erscheinung tritt, die andere, die bei geringeren Konzentrationen vorwiegt, an der Entfaltung hemmt.“

Van Loghem schreibt in seiner letzten Abhandlung über Agglutination folgendes: „Auf Grund meiner Versuche scheint vorläufig die Annahme einer ‚labilen fällenden Gruppe‘ und einer ‚stabilen bindenden Gruppe‘ im Bau der Agglutinine nicht berechtigt.“ Seine Versuche haben nachgewiesen, daß die fällbare Gruppe auch in hemmenden Seren anwesend ist; es scheint also nur die Affinität der Hemmungskörper zu lebenden Bazillen die Hemmung der Agglutination hervorzurufen. Nach van Loghem soll man mindestens 3 Gruppen agglutinationshemmender Körper unterscheiden, nämlich: 1) rasch zerlegte, thermolabile Körper in frischen Seren (Komplemente), 2) thermolabile Immunkörper, 3) durch besondere Bedingungen (hohe Temperatur) hervorgerufene Körper.

Um die Agglutination in geringeren Verdünnungen zu erhalten, wenn wir in den hemmenden Zone arbeiten, soll man nach van Loghem das Serum zuerst bis 56° C erwärmen. Die Agglutination tritt dann deutlich hervor, was der Verfasser durch die gänzliche Vertilgung (Ablenkung) eines thermostabilen Komplementes erklärt.

Schlußfolgerung:

1) Das Material für serodiagnostische Untersuchungen in Gestalt des Serums kann man ebenso gut aus dem erstarrten Blute wie auch aus Wattebüschchen oder Fließpapierscheibchen, welche mit Blut getränkt werden, erhalten.

2) Die Watte und das Fließpapier müssen steril sein, das Fließpapier darf keine leimigen Substanzen enthalten.

3) Das Serum, welches aus Fließpapier oder Watte gewonnen wird, liefert Resultate, welche mit derjenigen, die nach den gewöhnlichen Methoden hergestellt werden, kongruent sind.

4) Wenn nur einzelne Blutropfen zu Verfügung stehen, so leistet uns die Watte und vor allem das Fließpapier gute Dienste, besonders, wenn das Material aus der Provinz zu beziehen ist.

5) Wenn man das Fließpapier zur serodiagnostischen Behandlungen verwendet, so soll man außer den niedrigen auch höhere Verdünnungen herstellen, weil in den niedrigen die rote Färbung der Agglutinationsflüssigkeit die Klarheit der Reaktion beeinträchtigt.

Zum Schlusse erlaube ich mir, Herrn Dr. Serkowski meinen besten Dank für die gefälligen Ratschläge, welche er mir bei meiner Arbeit erteilt hat, auszusprechen.

Literatur.

1) Richardson, R., Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXI. 1897. 2) Berestnieff, Russkij wratsch No. 22. 1905. 3) Czaplicki, Zarys bakterjologii krwi. Łódź 1906. 4) Karwacki, Serodjagnostyka spraw zakaźnych. Warszawa 1904. 5) Ph. Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XLI. 1906. 6) Berestnieff, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XL. 1907. 7) J. J. van Loghem, Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XLV. 1907.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen über die Agglutination von Typhus- und Paratyphusbacillen im Verlaufe von Typhuserkrankungen.

[Aus der II. medizinischen Klinik in München
(Direktor: Prof. Friedrich v. Müller).]

Von B. G. Gross, München.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß häufig Paratyphusbacillen und überhaupt die dem Typhusbacillus nahestehenden Bakterien von dem Serum Typhuskranker resp. der gegen Typhus immunisierten Tiere mitagglutiniert werden.

Bei diesen Untersuchungen zeigten sich jedoch große Schwankungen des Agglutinationstiters der Sera gegenüber verschiedenen verwandten Stämmen. So berichten Widal und Nobécourt¹⁾ über eine Typhusinfektion, deren Erreger bakteriell allerdings nicht nachgewiesen war, bei der Typhusbacillen 1:20, Bact. coli 1:12000 agglutiniert wurde.

Ebenso fand Biberstein²⁾ in einigen Typhusfällen eine höhere Agglutination von B. coli; nach seiner Meinung können die Agglutinationshöhen beider parallel gehen. Zur Erklärung nahm er eine sekundäre Infektion mit Bact. coli als wahrscheinlich an, doch ist diese Annahme nicht bewiesen, da in keinem Falle Typhus- oder Coli-Bacillen gezüchtet worden waren.

Nach Stern³⁾ geht die Wirkung sowohl eines normalen als auch des Immun- oder Krankenserums auf Typhusbacillen nicht immer derjenigen auf Coli-Bakterien parallel, da manchmal Coli höher als Typhus agglutiniert wird. Auch er sieht dies zum Teil noch als Folge einer Mischinfektion an, doch wird sonst hierfür auch die Artverwandtschaft als Grund angenommen. Er⁴⁾ erklärt das Auftreten von stärkerer Agglutination des Bact. coli in einigen Fällen von niederer Agglutination

1) Semaine méd. 1897 (Soc. d. biol. 31. Bd. VII. 1897).

2) Biberstein, Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XXVII. 1898.

3) Stern, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIII. 1898.

4) Stern, Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 30.

für *Bac. typhi* folgendermaßen: „wenn in dem infizierten, beziehungsweise immunisierten Organismus besonders diejenigen Agglutinationsrezeptoren, die der Typhusbacillus mit dem Bacillus x gemeinsam hat, zu passenden haptophoren Gruppen treffen, so wird der Bacillus x durch das Serum des betreffenden Organismus stark mitagglutiniert werden. Nun ist es denkbar, daß bei starker Verdünnung des Serums beim Bacillus x deswegen noch Agglutination eintritt, beim Typhusbacillus aber nicht mehr, weil ersterer relativ mehr agglutinable Substanz hat als der Typhusbacillus.“

Im Gegensatz dazu beobachtete Pfaundler¹⁾ bei einigen Typhusfällen während der Erkrankung einen gleichsinnigen Verlauf in der Agglutination von *Bac. typhi* und *Bact. coli*. Als Ursache nimmt er eine Mischinfektion an: „Falls im Verlauf der Erkrankung die Agglutinationswerte für gewisse Coli-Stämme unabhängig von jenen für die isohomologen Typhusstämme ansteigen und letztere an absoluter Höhe übertreffen, so halte ich damit auch die sekundäre Beteiligung des *Bact. coli* am Krankheitsprozeß für erwiesen.“ Züchtungsversuche liegen aber auch von ihm nicht vor.

Im Tierversuch konnte Jatta²⁾ bei 10 Typhuskulturen verschiedenen Alters und Ursprunges keine wesentlichen Unterschiede Typhusimmenserum gegenüber feststellen, wohl aber bei Coli-Kulturen (28 Stämme). Seiner Meinung nach muß ein typhusverdächtiger Bacillus im Typhusserum in annähernd gleicher Weise wie echte Typhusstämme agglutiniert werden, widrigenfalls es kein Typhusbacillus sein könne, eine Ansicht, die jetzt nicht mehr haltbar ist.

Ferner beobachtete er auch die Agglutination von Typhusbacillen durch Coli-Tierserum (1:300:1000) und zwar von jenen Coli-Stämmen, die ihrerseits von Typhusserum agglutiniert wurden, doch stellt er diese Erscheinung nicht als allgemein gültig hin.

Von einer sekundären Infektion unabhängig hält er das erhöhte Agglutinationsvermögen, das das Serum eines mit Typhus geimpften Tieres einigen Arten von Coli gegenüber erlangt.

Es konnten also nach den bisherigen Versuchen sowohl bei Krankenseris als bei Tierversuchen keine bestimmten Beziehungen zwischen dem Agglutinationsvermögen von Typhus und Coli festgestellt werden. Es ist dies nicht zu verwundern, wenn man bedenkt, welchen Schwankungen die Agglutination von Coli-Stämmen durch normale und kranke Sera unterworfen ist, wie neuerdings besonders die Arbeit von Klieneberger³⁾ zeigt.

Etwas regelmäßiger scheinen sich dagegen die Beziehungen zwischen Typhus- und Paratyphusbacillen zu gestalten, wenn auch hier noch reichlich Variationen im Verhalten der einzelnen Typhus- und Paratyphusstämme auftreten.

Hier liegt auch eine größere Anzahl von einschlägigen Beobachtungen vor.

So fand Jürgens⁴⁾ bei einer Paratyphus-B.-Epidemie, daß die Agglutination auf *Bacillus typhi* sich bis auf eine Ausnahme als regelmäßig erwies. Im allgemeinen geht zwar die Agglutinationskurve der der Typhusbacillen parallel, eine allgemein gültige Gesetzmäßigkeit läßt

1) Pfaundler, Münch. med. Wochenschr. 1899. No. 15.

2) Jatta, Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XXXIII. 1900.

3) Klieneberger, Deutsches Archiv f. klin. Med.

4) Jürgens, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLIII. 1903.

sich aber, selbst bei denselben Kranken, nicht finden. Die als „Typhoid“ bezeichneten Bacillengruppen wurden zumeist weniger hoch agglutiniert, zuweilen war jedoch auch das Gegenteil der Fall. Bei Benützung einiger Typhusstämme zum Vergleich konnte er keine großen Unterschiede in der Agglutination feststellen. Seine Tierversuche ergaben ähnliche Resultate.

T. Conrad, v. Drigalski, Jürgens¹⁾ konnten auch feststellen, daß bei Vergleichsagglutinationen zwischen *Bac. typhi* und dem Saarbrückener Stäbchen im Verlauf der Erkrankung die Kurven ziemlich parallel liefen.

Brion²⁾ berichtet über einen nachgewiesenen Typhusfall, in dem der Agglutinationstiter für Paratyphus A stets höher als für Typhus war, während in einem zweiten Fall diese Erscheinung nur anfangs auftrat. Ebenso wurde nach Jürgens³⁾ in einem sichergestellten Typhusfall Paratyphus B höher agglutiniert als Typhus (50 : 800) (200 : 600).

Das wechselnde Verhalten bei der Agglutination verschiedener Typhus- und Paratyphusstämme zeigt sich auch in folgenden Angaben :

Bruns und Kayser⁴⁾ fanden von Paratyphusserum A Agglutination von A und B, während von Paratyphusserum B Paratyphus A nicht, dagegen Typhus niedrig agglutiniert wurde, und sehr gering auch nahe-stehende Bakterien.

Für Typhusserum stellten sie folgende Möglichkeiten auf:

- 1) Typhusserum agglutinierte Paratyphus A, B und ähnliche Bakterien;
- 2) Typhusserum agglutinierte Typhus, dagegen Paratyphus A und B fast nicht, ähnliche Bakterien so gut wie nicht;
- 3) Typhusserum agglutinierte nur Typhus.

Nach Grünberg und Rolly⁵⁾ trat Mitagglutination von Paratyphus A und B in 70 Proz. aller Typhusfälle (40 Fälle) ein, in 35 Proz. war die Agglutination sogar höher als die des Typhusbacillus, einmal sogar 2000 : 800. In 80 Proz. der Fälle konnten Typhusbacillen aus Blut gezüchtet werden.

Ferner stellten sie für die Agglutination von Typhusbacillen, Paratyphusbacillen A und B zeitliche Unterschiede fest. Paratyphus wurde meist erst zwischen der 2. und 3. Woche agglutiniert, doch haben sie in den betreffenden Fällen nur 2mal bzw. nur 1mal agglutiniert. — Bei *Bact. coli* ließ sich nur geringe Agglutination beobachten, *Bac. enteritidis* wurde stets mitagglutiniert, zuweilen höher als Typhusbacillen. Die Agglutination von Paratyphusbacillus B und *Bac. enteritidis* war nicht gleichsinnig. Bemerkenswert ist, daß nach ihren Versuchen Paratyphusbacillus A und B meist dann mitagglutiniert wurde, wenn die Werte für Typhusbacillus niedrig waren. Doch fanden sich auch Abweichungen davon.

Demgegenüber hat Zupnik⁶⁾ in weit über 700 Beobachtungen bei vergleichender Serumprüfung mit Eberth, Schottmüller und Brion und Kaiserschen Serum nur 4 Fälle gefunden, deren Blutserum Paratyphuserreger dauernd höher agglutinierte als Eberthsche Bacillen. Darunter sind 2 Fälle von Jürgens und v. Drigalski, deren abweichende Befunde Zupnik aus völlig verschiedener Technik, Beobach-

1) Jürgens, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLII. 1903.

2) Brion, Ref. Deutsch. Med. Wochenschr. 1904. No. 22.

3) Jürgens, Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 34.

4) Bruns und Kayser, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLIII. 1903.

5) Grünberg und Rolly, Münch. med. Wochenschr. 1905.

6) Zupnik, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 44.

tungsweise und -zeit und anderer Agglutinationsfähigkeit der Prüfungstämmen erklärt.

Kutscher und E. Meinicke¹⁾ konnten bei ihren Agglutinationsversuchen mit Mäusetyphusserum ihre Paratyphuskulturen in 2 Gruppen teilen, von denen die eine Gruppe (26 Kulturen) nur in sehr geringem Grade von dem Mäusetyphusserum mit beeinflußt wurde, während dagegen die andere (38 Stämme) bis zur Titerdosis mitagglutiniert wurde. Als Grund für dieses Verhalten nehmen sie die verschiedene Herkunft der Kulturen an.

Bei der Agglutination der Paratyphusbacillen mit Typhusseris finden sie die Gleichmäßigkeit der Beeinflussung als besonders auffallend.

Sehr geringe Beeinflussung zeigen die Paratyphusbacillen vom Typus B durch Paratyphusserum A, oft kaum 1:50, niemals 1:100.

Als wichtigsten Unterschied gegenüber den Angaben anderer Autoren stellen sie die außerordentlich gleichmäßige Beeinflussbarkeit der Paratyphuskulturen vom Typus B durch Paratyphussera und durch Typhussera fest.

Nach den Fällen von Beljaeff²⁾ agglutinieren typhöse Sera Paratyphusbacillen A und B schwach oder gar nicht; auch das umgekehrte Verhalten trat ein.

Korte und Steinberg³⁾ berichteten über 70 Typhusfälle, bei denen 20mal A und B mitagglutiniert,

7 „ A allein,

9 „ B „

24 „ weder A noch B agglutiniert wurden.

In keinem der Fälle war der Agglutinationswert von Paratyphus A oder B höher als für Typhusbacillen. Dabei bestand kein Unterschied hinsichtlich Mitagglutination, ob Typhusbacillus niedrig oder hoch agglutiniert war.

Nach Manteufel⁴⁾ wurde bei Typhusfällen mit 68 Proz. Paratyphusbacillus agglutiniert, und zwar meist A und B, manchmal A oder B allein. Häufig bestand für alle 3 Stämme niedrige Agglutination. Bei stärkeren Seris trat der Unterschied in der Agglutination von Typhus- und Paratyphusbacillen deutlicher hervor, niemals wurden jedoch Paratyphusbacillen gleich hoch oder höher wie Typhusbacillen agglutiniert. Doch hat auch er keine Züchtungen, sondern nur einmalige Versuche angestellt. Er benutzte leicht agglutinierbare Stämme.

Aber auch das Verhalten echter Typhusstämme in bezug auf die Agglutination ist ein durchaus verschiedenes und schwankendes.

Rufus J. Cole⁵⁾ hat bei seinen Versuchen an Kaninchen, die er mit sämtlich als echt erwiesenen Typhusstämmen immunisiert hatte, folgende Resultate erhalten:

- 1) Verschiedene Stämme werden von demselben Serum verschieden agglutiniert.
- 2) Der zum Immunisieren benützte Stamm wird nicht so hoch agglutiniert wie andere.

Es handelt sich also um Verschiedenheit der einzelnen Bakterienstämme, aber nicht des Serums.

1) Kutscher und E. Meinicke, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LII. 1906.

2) Beljaeff, Centralbl. f. Bakt. Ref. XXXIII.

3) Korte und Steinberg, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 21.

4) Manteufel, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 28.

5) Rufus J. Cole, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVI. 1904.

Demgegenüber wird nach Jatta¹⁾ der Bacillus, mit dem das Tier geimpft wurde, bedeutend höher agglutiniert als andere Mikroorganismen derselben Gruppe. (Differenz meist 1:1000, zu ca. 1:30:100:300.)

Zur Nachprüfung dieser Befunde wurden nun Meerschweinchen mit den folgenden Stämmen, die auch zur Prüfung der Krankensera verwandt wurden, immunisiert:

- Stamm 1 Meningitis: aus der Klinik gezüchteter echter Typhus.
 „ 2 Indien: aus Indien stammender echter Typhus.
 „ 3 Scharl: Typhus, Mandelbaum'scher²⁾ Metatyphus.
 „ 4 Paratyphus A.
 „ 5 Paratyphus B.

Jedes Tier erhielt in 8-tägigen Intervallen je 4mal 2 Spritzen einer durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 56° abgetöteten 24-stündigen Bouillonkultur unter die Rückenhaut. Das Blut wurde 8 Tage nach der letzten Injektion aus einer Ohrvene entnommen und das Serum mit den genannten 5 Stämmen nach der von Stäubli³⁾ angegebenen Methode angesetzt, deren außerordentliche Zuverlässigkeit gerade für Austitrierung feinerer Unterschiede wir betonen möchten.

1. Meerschweinchen immunisiert gegen St. Meningitis:

Agglutination	Meningitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut beweglich
Verd. 1: 25	+++	+++	++	+	+++
1: 50	+++	+++	++	+	+++
1: 100	+++	+++	+	0	+++
1: 200	++	++	0		++
1: 400	++	+			++
1: 800	+	0			+
1:1600	+				+
1:3200	+ Spur				0

Hierbei bedeuten +++, daß fast sämtliche Bacillen in großen Haufen agglutiniert waren, ++, daß sehr viele größere Haufen, +, daß viele Haufen, + Spur, daß vereinzelte kleine Häufchen von ca. 6—8 beweglichen Individuen gebildet waren. Die Kontrollen waren stets ohne Häufchen.

2. Meerschweinchen immunisiert gegen St. Indien:

Agglutination	Meningitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut beweglich
1: 25	+++	+++	++	+	0
1: 50	++	+++	++	0	
1: 100	+	++	+		
1: 200	+ Spur	+	0		
1: 400	0	+ Spur			
1: 800		0			
1:1600					
1: 3200					

1) Jatta, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXIII. 1900.

2) Mandelbaum, Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 36.

3) Stäubli, Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 48.

3. Meerschweinchen immunisiert gegen St. Scharl:

Agglutination	Menin- gitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut beweglich
1: 25	+++	+	+++	+	+
1: 50	+++	0	+++	+	+
1: 100	+++		+++	+ Spur	0
1: 200	++		++	0	
1: 400	+		+		
1: 800	+ Spur		+		
1: 1600	0		+ Spur		
1: 3200			0		

4. Meerschweinchen immunisiert gegen St. Paraty A.

Agglutination	Menin- gitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut beweglich
1: 25	+	+	0	+++	++
1: 50	0	+		+++	++
1: 100		0		++	+
1: 200				++	+
1: 400				+	0
1: 800				+	
1: 1600				+ Spur	
1: 3200				0	

5. Meerschweinchen immunisiert gegen St. Paraty B.

Agglutination	Menin- gitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut beweglich
1: 25	+++	++	+++	++	+++
1: 50	+++	++	+++	++	+++
1: 100	++	++	++	+	+++
1: 200	++	+	++	0	++
1: 400	+	0	++		++
1: 800	0		++		++
1: 1600			+		++
1: 3200			+		++
1: 6400			0		0

Es zeigt sich also, daß der Stamm, gegen den immunisiert worden war, in manchen Fällen nicht oder nur wenig höher agglutiniert wird als der eine oder andere der angewandten Stämme; und zwar sind die geringen Unterschiede nicht nur bei den Typhusstämmen, wie es eher zu erwarten wäre, sondern auch einmal gegenüber Paratyphus B und umgekehrt bei Paratyphus B-Immunserum gegenüber Typhus Scharl zu konstatieren. Es wird also nach diesen und den erwähnten Versuchen von Cole nicht in allen Fällen ein Serum erzeugt, das sich durch den Agglutinationstiter mit aller Sicherheit als spezifisch für einen Stamm

erkennen läßt. Erwähnenswert ist die übrigens auch schon bekannte Tatsache, daß hoch mitagglutinierte Stämme keineswegs selbst ein Immunsérum zu erzeugen brauchen, das auch die anderen Stämme hoch hinauf agglutiniert.

Man kann sich dabei mit der Erklärung helfen, daß eben durch die Immunisierung mit verschiedenen Stämmen im Serum nicht die Bildung von passenden Rezeptoren angeregt wurde.

Leider konnte Versuch 2 aus äußeren Gründen nicht, wie zur Erzeugung eines höheren Titors wünschenswert, wiederholt werden.

Aus obigem geht hervor, daß im allgemeinen zwar der gleichartige Stamm höher agglutiniert wird als artverwandte, dies jedoch keine Regel ist, da in der Häufigkeit und Höhe der Agglutination bei den verwandten Stämmen beträchtliche Unterschiede bestehen.

Sogar bei gleichartigen Stämmen zeigen sich Unterschiede, wie z. B. neben älteren Angaben neuere Untersuchungen von Müller und Gräfl¹⁾ ergeben. Aus ihnen geht hervor, daß zuweilen der eine Typhusstamm agglutiniert wird, während dies Phänomen bei einem anderen vollkommen ausbleibt.

Längere Versuchsreihen über diese Frage existieren nur bei Falta und Noeggerath²⁾, die während einer Typhusepidemie anlässlich des Auftretens von Hemmungserscheinungen mehrere Typhusstämme untersuchten. Sie gelangten dabei zu dem auffallenden Resultat, daß jeder untersuchte Stamm im Verlauf der Erkrankung ganz verschieden hoch, zuweilen auch gar nicht oder erst in stärkerer Verdünnung agglutiniert wurde, so daß bald der eine, bald der andere Stamm den höchsten Titer aufwies. Es kam aber in keinem Falle vor, daß während der ganzen Erkrankung ein Stamm nicht agglutiniert wurde.

Es sollte nun nachgeprüft werden, ob dieses schwankende Verhalten regelmäßig vorkomme, oder ob es zufällig eine Eigenheit der Epidemiefälle von Falta und Noeggerath³⁾ gewesen sei. Auf die Verschiedenheit der Technik soll hier nicht näher eingegangen werden, es mag aber erwähnt sein, daß die Untersuchungen von Falta und Noeggerath mit in Formol-Bouillon abgetöteten Bacillen und bei schwacher Vergrößerung nach Pröschner ausgeführt wurden.

Meine Untersuchungen wurden nach der in der Klinik üblichen Weise, nach Angabe von Stäubli⁴⁾, vorgenommen. Stets wurde über den Endwert hinaus titriert. Die eigenen Stämme der Patienten waren meist aus dem Blut der betreffenden Patienten isoliert und vor Benutzung mehrfach umgezüchtet worden (Bouillon und Agarplatten). Die Fälle und Krankengeschichten 5, 6, 7, 9 stammen aus der I. med. Klinik: für ihre Ueberlassung sei Herrn Prof. v. Bauer der ergebenste Dank abgestattet.

1) Müller und Gräfl, Zeitschr. f. Hyg. 1900.

2) Falta und Noeggerath, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXIII.

3) *ibid.*

4) l. c.

1) O. Franz, Maler, 24 Jahre alt. Eintritt am 4. Juli 1907. Beginn ca. 25. Juni 1907 mit Kopfschmerzen, Mattigkeit, unruhigem Schlaf, Appetitlosigkeit, Durst; seit einigen Tagen Durchfall. Stat. praes. Temp. 40,2°, Puls 98. Leichte Benommenheit, zahlreiche Roseolaflecken. Zunge trocken, belegt. Leichte Bronchitis, nicht deutlicher palpabler Milztumor. Leukocyten 6380, Widal 1:800 pos. Di pos. schwach. Verlauf sehr schwer mit 14-tägiger Continua, Pneumonie, blutigen Diarrhöen. Aus Blut ließen sich Typhusbacillen (Mandelbaumscher Metatyphusstamm) züchteten. Ungestörte Rekonvaleszenz.

Agglutination	Eigener Stamm	Menin- gitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 10. August	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut bewegl.
1: 25	+	θ	+++	+	+	+
1: 50	+	θ	++	++	+	+
1: 100	+	θ	++	+	+	θ
1: 200	θ		+	θ	Spur	
1: 400			+			
1: 800			+			
1: 1600			+			
1: 3200			θ Spur			
Dat. 17. August						
1: 25	++	+	+++	+	++	+
1: 50	++	+	+++	++	+	+
1: 100	+	θ	+++	+	+	θ
1: 200	+		++	θ	θ	
1: 400	θ		+			
1: 800			+			
1: 1600			+			
1: 3200			θ Spur			
Dat. 24. August						
1: 25	+++	+	+++	+	++	+
1: 50	++	+	+++	++	+	θ
1: 100	+	θ	+++	+	+	
1: 200	+		++	θ	θ	
1: 400	θ		++			
1: 800			+			
1: 1600			+			
1: 3200			θ Spur			

2) E. Marie, Etagenmädchen, 18 Jahre alt. Eintritt 16. Juli 1907. Seit ca. 5 Tagen Unwohlsein, Kopfschmerzen, Frösteln, Appetitlosigkeit. Stuhl angehalten. Seit 2 Tagen bettlägerig. Befund: Temp. 40,1°, Puls 108, Zunge belegt, trocken, leichte Bronchitis, Milztumor, keine Roseolen, Di pos. Widal 1:25 pos. Verlauf sehr schwer, 16-tägige Continua, sehr starke Benommenheit, Pneumonie, Otitis med. pur. sin. Aus Blut Typhus (Mandelbaumscher Metatyphus). Ungestörte Rekonvaleszenz.

Agglutination	Eigener Stamm	Menin- gitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 10. August	gut beweglich	sehr gut beweglich	zieml. gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich
1: 25	+++	++	++	+++	++	++
1: 50	++	++	++	+++	++	+
1: 100	+	+	+	++	+	θ
1: 200	θ	θ	+	+	+	
1: 400			θ Spur	+	+	
1: 800				θ Spur	θ Spur	

Agglutination	Eigener Stamm	Menin- gitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 17. August	gut beweglich	sehr gut beweglich	zieml. gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich
1: 25	+++	+	+++	+++	+++	++
1: 50	++	+ ?	+++	+++	++	++
1: 100	++	θ	+++	+	++	θ
1: 200	+		++	+	+	
1: 400	θ		++	θ	θ	
1: 800			+			
1: 1600			θ			
Dat. 24. August						
1: 25	+++	+	+++	+++	+++	++
1: 50	++	+ ?	+++	++	++	++
1: 100	++	θ	+++	+	++	+ Spur
1: 200	+		++	+	+ Spur	θ
1: 400	θ		+	θ	θ	
1: 800			θ			
Dat. 31. August						
1: 25	+++	+	+++	+++	+++	+++
1: 50	++	θ	+++	+++	++	++
1: 100	+		+++	++	++	+
1: 200	+		++	+	+	θ
1: 400	θ		+	θ	θ	
1: 800			θ			
Dat. 7. September						
1: 25	+++	+	+++	+++	+++	+++
1: 50	++	θ	+++	+++	+++	++
1: 100	+		++	++	++	+
1: 200	+ Spur		+	+	+	θ
1: 400	θ		+	θ	θ	
1: 800			θ			
Dat. 21. September						
1: 25	+++	+	+++	+++	+++	+++
1: 50	++	θ	+++	+++	+++	+
1: 100	+		++	++	++	+
1: 200	+ Spur		+	+ Spur	+	θ
1: 400	θ		+ Spur	θ	θ	
1: 800			θ			

3) G. Anna, Dienstmädchen, 19 Jahre alt. Eintritt 26. Juli 1907. Seit einiger Zeit Kopfschmerzen, Mattigkeit. Befund: Temp. 37,8°, Puls 78. Keine Bronchitis, kein Milztumor, keine Roseolen. Abends Temp. 39,5°. Leukocyten 4500. Widal 1:25 neg. Di neg. Am 3. August Widal 1:25 pos. Diazo pos. Leukocyten 2900. Später Bronchitis, Milztumor. Aus Blut: Typhus gezüchtet. Verlauf ziemlich leicht, ohne Komplikation. Rekonvaleszenz ungestört.

Agglutination	Eigener Stamm	Menin- gitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 7. August	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut bewegl.
1:25	++	+	+++	+++	+ Spur	+
1:50	+	+	+++	++	θ	θ

Agglutination	Eigener Stamm	Menigitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 7. August	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut bewegl.
1: 100	+	+	++	+		
1: 200	+		+	+ Spur		
1: 400			+	+		
1: 800			+			
1: 1600			+ Spur			
1: 3200			+			
Dat. 14. August						
1: 25	++	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+	+++	+++	+++		+++
1: 100	+	++	+++	++	+ Spur	++
1: 200	+	+	++	++	+	+
1: 400	+ Spur	+	++	+		+ Spur
1: 800	+	+	++	+		+
1: 1600		+ Spur	+	+ Spur		+
1: 3200		+	+	+		
Dat. 21. August						
1: 25	++	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+	+++	+++	+++	+	+++
1: 100	+	++	+++	++	+ Spur	++
1: 200	+	+	+++	++	+	++
1: 400	+ Spur	+	++	+		+
1: 800	+	+	+	+ Spur		+
1: 1600		+ Spur	+ Spur	+		
1: 3200		+	+	+		
Dat. 28. August						
1: 25	++	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	++	+++	+++	+++	+	+++
1: 100	+	++	+++	+++	+	++
1: 200	+ Spur	+	+++	++	+	++
1: 400	+	+	++	+		+
1: 800		+	+	+		+
1: 1600		+ Spur	+ Spur	+ Spur		
1: 3200		+	+	+		
Dat. 11. September						
1: 25	++	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+	+++	+++	+++	+	+++
1: 100	+	++	+++	+++	+ Spur	++
1: 200	+ Spur	+	+++	++	+	+
1: 400	+	+	++	+		+ Spur
1: 800		+ Spur	+	+		+
1: 1600		+	+ Spur	+		+
1: 3200		+	+	+		

4) Bl. Anton, Bäcker, 22 Jahre alt. Eintritt 12. Juli 1907. Seit einiger Zeit Schmerzen in den Fußgelenken, Kopfweh, Mattigkeit, mäßigen Durchfall. Befund: Temp. 38,1°, Puls 104. Leichte Benommenheit, belegte Zunge, diffuse Bronchitis, pneumon. Infiltration des linken Unterlappens, leicht aufgetriebenes Abdomen. Milztumor, Roseolen, Leukocyten 8200, Widal 1:100 pos. 1:200 Spuren, Diazo schwach pos. Verlauf sehr schwer, mit doppelseitiger Pneumonie; am 23. August Rezidiv. Aus Blut Typhusbacillen (Mandelbaumscher Metatyphus) gezüchtet. Ungestörte Rekoneszenz.

Agglutination	Eigener Stamm	Menigitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 10. August	gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut bewegl.
1: 25	+++	++	+++	+++	+++	+++
1: 50	+++	+	++	+++	+++	+
1: 100	+++	+ Spur	+	+	++	+
1: 200	+	+	+	+	++	
1: 400	+ Spur			+ Spur	++	
1: 800	+			+	+	
1:1600					+	
1:3200					+ Spur	
Dat. 17. August						
1: 25	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 50	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 100	+++	++	+++	+++	+++	++
1: 200	+++	+	+++	+++	++	+ Spur
1: 400	++	+ Spur	++	++	++	+
1: 800	+ Spur	+	++	+	+	
1:1600	+		++	+	+ Spur	
1:3200			+ Spur	+	+	
Dat. 24. August						
1: 25	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 50	+++	+++	+++	+++	+++	++
1: 100	++	+	+++	+++	++	+
1: 200	+	+	+++	++	++	
1: 400	+	+	++	++	+	
1: 800	+		++	+	+	
1:1600			+	+	+	
1:3200			+	+	+	
Dat. 31. August						
1: 25	+++	+++	+++	+++	+++	++
1: 50	+++	++	+++	+++	++	+
1: 100	++	+	+++	+++	++	+
1: 200	+	+ Spur	+++	++	+	
1: 400	+	+	++	++	+	
1: 800	+		+	+	+	
1:1600			+	+	+	
1:3200			+	+	+	
Dat. 14. September						
1: 25	+++	+++	+++	+++	+++	+
1: 50	+++	++	+++	+++	++	+
1: 100	++	+	+++	+++	++	+
1: 200	+	+ Spur	++	++	+	
1: 400	+	+	++	++	+ Spur	
1: 800	+		+	+	+	
1:1600			+ Spur	+	+	
1:3200			+	+	+	

Agglutination	Eigener Stamm	Menin- gitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 7. August	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut bewegl.
1: 100	+	θ	++	+		
1: 200	θ		+	+ Spur		
1: 400			+	θ		
1: 800			+			
1: 1600			+ Spur			
1: 3200			θ			
Dat. 14. August						
1: 25	++	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+	+++	+++	+++	+	+++
1: 100	+	++	+++	++	+ Spur	++
1: 200	+	+	++	++	θ	+
1: 400	+ Spur	+	++	+		+ Spur
1: 800	θ	+	++	+		θ
1: 1600		+ Spur	+	+ Spur		
1: 3200		θ	θ	θ		
Dat. 21. August						
1: 25	++	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+	+++	+++	+++	+	+++
1: 100	+	++	+++	++	+ Spur	++
1: 200	+	+	+++	++	θ	++
1: 400	+ Spur	+	++	+		+
1: 800	θ	+	+	+ Spur		θ
1: 1600		+ Spur	+ Spur	θ		
1: 3200		θ	θ			
Dat. 28. August						
1: 25	++	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	++	+++	+++	+++	+	+++
1: 100	+	++	+++	+++	+	++
1: 200	+ Spur	+	+++	++	θ	++
1: 400	θ	+	++	+		+
1: 800		+	+	+		θ
1: 1600		+ Spur	+ Spur	+ Spur		
1: 3200		θ	θ	θ		
Dat. 11. September						
1: 25	++	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+	+++	+++	+++	+	++
1: 100	+	++	+++	+++	+ Spur	++
1: 200	+ Spur	+	+++	++	θ	+
1: 400	θ	+	++	+		+ Spur
1: 800		+ Spur	+	+		θ
1: 1600		θ	+ Spur	θ		
1: 3200			θ			

4) Bl. Ausstr. ...
Schmerzen in ...
Temp. 38.1° F ...
chitis, paracenta ...
Mikroskop. ...
pos. Verlauf ...
Blut Typus ...
valens...

0. Juli
108.
Leuko-
phus).

Paraty B

hr gut
veglich

++
+
0

++
+
0

+
0

ur +
0

07. Seit 7. Juli
nachtes entlassen.
eolen, Bronchitis,
leicht. Aus Blut

Das. 14. September

Paraty A

Paraty B

gut	gut	äußerst
veglich	beweglich	gut bewegl.
++	++	+++
+++	++	+
+++	+	+ Spur
++	+	0

34*

5) Tr. Elise, Zugeherin, 19 Jahre alt. Eintritt 21. Juli 1907. Seit 17. Juli Unwohlsein, seit 19. Juli bettlägerig; heftige Kopfschmerzen und stechende Schmerzen im Rücken. Befund: Temp. 36,6°, Puls 90. Keine Bronchitis, kein Milztumor, keine Roseolen. Am 31. Juli Roseolen. Diazo ++ Leukocyten 4400. Bronchitis, Widal 1:200 pos. Verlauf leicht o. B. Aus Faeces: Typhus (Mandelbaumscher Metatyphus). Ungestörte Rekonvaleszenz.

Agglutination	Eigener Stamm	Menigitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 9. August	ziemlich gut bewegl.	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich
1: 25	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 50	++	+++	+++	+++	++	++
1: 100	++	+	+++	+	+	+
1: 200	++	0	+++	0	+ Spur	0
1: 400	+		+++		0	
1: 800	0		++			
1: 1600			++			
1: 3200			+			
1: 6400			0			
Dat. 16. August						
1: 25	+++	+++	+++	+++	+++	++
1: 50	++	++	+++	++	++	+
1: 100	+	+ Spur	+++	+	+	+ Spur
1: 200	+	0	++	+	+ Spur	0
1: 400	0		++	+ Spur	0	
1: 800			+	0		
1: 1600			+			
1: 3200			+ Spur			
Dat. 23. August						
1: 25	+++	++	+++	+++	++	++
1: 50	++	++	+++	++	++	+
1: 100	+	0	+++	+	+	+ Spur
1: 200	+ Spur		++	+	+ Spur	0
1: 400	0		++	+ Spur	0	
1: 800			+	0		
1: 1600			+ Spur			
1: 3200			0			
Dat. 30. August						
1: 25	+++	++	+++	+++	++	++
1: 50	++	++	+++	++	+	+
1: 100	+	+	+++	++	+	0
1: 200	0	0	++	+	0	
1: 400			+	0		
1: 800			0			
Dat. 14. September						
1: 25	+++	++	+++	+++	++	+
1: 50	++	++	+++	++	+	+ Spur
1: 100	+ Spur	+ Spur	+++	++	+ Spur	0
1: 200	0	0	++	+ Spur	0	
1: 400			+	0		
1: 800			0			

6) W. Anna, Lehmädchen, 16 Jahre alt. Eintritt 27. Juli 1907. Am 20. Juli plötzlich heftiges Kopfweh, Schüttelfrost, Galleerbrechen. Befund: Tem. 40°, Puls 108. Zahlreiche Roseolen, mäßige Bronchitis, Milztumor Diazo pos. Widal 1:25 pos. Leukocyten 3200. Verlauf leicht. Aus Faeces: Typhus (Mandelbaumscher Metatyphus). Rekonvaleszenz ungestört.

Agglutination	Eigener Stamm	Menigitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 9. August	gut beweglich	gut beweglich	gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich
1: 25	+ Spur	+ Spur	+	+	+	+
1: 50	⊖	⊖	+	+	+	+
1:100			+ Spur	⊖	⊖	⊖
1:200			⊖			
Dat. 16. August						
1: 25	+	+++	+++	+	++	++
1: 50	⊖	++	++	++	+	+
1:100		++	+	+ Spur	+ Spur	⊖
1:200		+	+ Spur	⊖	⊖	
1:400		⊖	⊖			
Dat. 23. August						
1: 25	+	+++	+++	++	++	++
1: 50	+ Spur	++	++	+	+	+
1:100	⊖	++	+	+ Spur	+ Spur	⊖
1:200		+	+	⊖	⊖	
1:400		+	⊖			
1:800		⊖				
Dat. 30. August						
1: 25	+	++	++	++	+	+
1: 50	+ Spur	++	++	+	+	⊖
1:100	⊖	+	+	+ Spur	⊖	
1:200		+ Spur	+	⊖		
1:400		⊖	⊖			
Dat. 14. September						
1: 25	+	++	++	++	+	+
1: 50	⊖	++	++	+	+ Spur	⊖
1:100		+	+	+ Spur	⊖	
1:200		+ Spur	+	⊖		
1:400		⊖	⊖			

7) B. Marg., Kindermädchen, 16 Jahre alt. Eintritt 29. Juli 1907. Seit 7. Juli Halsschmerzen, Fieber, Kopfweh. Wird auf Wunsch trotz Typhusverdachtes entlassen. Beim Wiedereintritt Temp. 39,3°, Puls 108, Zunge rissig, belegt, Roseolen, Bronchitis, Milztumor. Leukocyten 3000. Widal 1:20 pos. Diazo pos. Verlauf leicht. Aus Blut und Faeces: Typhus. Ungestörte Rekonvaleszenz.

Agglutination	Eigener Stamm	Menigitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 10. August	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	äußerst gut bewegl.
1: 25	+++	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+++	+++	+++	+++	++	+
1:100	+++	+++	+++	+++	+	+ Spur
1:200	++	++	+++	++	+	⊖

Agglutination	Eigener Stamm	Menin- gitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 10. August	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	äußerst gut bewegl.
1: 400	+	+	+	++	+	
1: 800	+	+	+	+	+ Spur	
1: 1600	+	+	+	+	+	
1: 3200	+	+ Spur	+ Spur	+ Spur	+	
1: 6400	+	+	+	+	+	
Dat. 17. August						
1: 25	+++	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+++	+++	+++	+++	++	++
1: 100	+++	+++	+++	+++	+	+
1: 200	++	++	+++	++	+	+ Spur
1: 400	+	+	++	+	+	+
1: 800	+	+	+	+	+ Spur	+
1: 1600	+	+ Spur	+	+	+	
1: 3200	+	+	+ Spur	+	+	
1: 6400	+	+	+	+	+	
Dat. 24. August						
1: 25	+++	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+++	+++	+++	+++	++	++
1: 100	++	++	+++	++	+	+
1: 200	++	+	+++	++	+ Spur	+ Spur
1: 400	+	+	++	+	+	+
1: 800	+	+ Spur	+	+	+	+
1: 1600	+	+	+ Spur	+	+	
1: 3200	+	+	+	+	+	
1: 6400	+	+	+	+	+	
Dat. 31. August						
1: 25	+++	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+++	+++	+++	+++	++	++
1: 100	++	++	+++	++	+	+
1: 200	++	+	+++	++	+ Spur	+
1: 400	+	+	++	+	+	+
1: 800	+	+ Spur	+	+	+	+
1: 1600	+	+	+ Spur	+	+	
1: 3200	+ Spur	+	+	+	+	
1: 6400	+	+	+	+	+	
Dat. 14. September						
1: 25	+++	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	++	+++	+++	+++	+	++
1: 100	++	+++	++	+++	+	+
1: 200	+	++	+	++	+	+
1: 400	+	+	+	+	+	+
1: 800	+	+	+ Spur	+	+ Spur	+
1: 1600	+ Spur	+	+	+	+	
1: 3200	+	+	+	+	+	

8) Ob. Max, städtischer Hilfsarbeiter, 20 Jahre alt. Eintritt 7. August 1907. Seit Ende Juli Mattigkeit, Kopfschmerzen, Durst. Befund: Temp. 39°, Puls 80. Zunge trocken, stark belegt. Am linken vorderen Gaumenbogen ein flächenhaftes, grauweißes, linsengroßes Ulcus. Keine Bronchitis; Milztumor, Roseolen. Widal 1:50 pos. Leukocyten 6000. Mittelschwerer Verlauf mit leichter Oberschenkelthrombose, vereinzelt Schüttelfrösten. Diazo stets negativ. Aus Blut: Typhus (Mandelbaumscher Metatyphus). Ungestörte Rekoneszenz.

Agglutination	Eigener Stamm	Menigitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 8. August	gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich
1: 25	++	⊖	+++	+	+	+
1: 50	+		+++	+ Spur		+
1: 100	⊖		++	⊖	+ Spur	+
1: 200			++		⊖	⊖
1: 400			+ Spur			
1: 800			⊖			
1: 1600						
Dat. 15. August						
1: 25	++	++	+++	+++	++	+++
1: 50	++	+	+++	++	++	+++
1: 100	+ Spur	⊖	+++	+	+	++
1: 200	⊖		+++	+ Spur	+	+
1: 400			++	⊖	⊖	⊖
1: 800			++			
1: 1600			+			
1: 3200			+ Spur			
1: 6400			⊖			
Dat. 22. August						
1: 25	++	++	+++	+++	++	++
1: 50	++	+	+++	+++	+	+
1: 100	+ Spur	⊖	+++	++	+ Spur	+ Spur
1: 200	+		+++	+	⊖	⊖
1: 400	⊖		++	+ Spur		
1: 800			++	⊖		
1: 1600			++			
1: 3200			+			
1: 6400			⊖			
Dat. 29. August						
1: 25	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 50	+++	++	+++	+++	++	++
1: 100	++	++	+++	+++	+	++
1: 200	++	+ Spur	+++	++	⊖	+
1: 400	+	⊖	++	+		+ Spur
1: 800	+ Spur		++	+		⊖
1: 1600	⊖		++	⊖		
1: 3200			+			
1: 6400			⊖			
Dat. 5. September						
1: 25	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 50	+++	+++	+++	+++	++	++
1: 100	++	++	+++	+++	+	++
1: 200	++	++	+++	+++	+ Spur	+
1: 400	+	+	++	+	⊖	+
1: 800	+	⊖	++	+ Spur		+
1: 1600	+ Spur		++	⊖		+ Spur
1: 3200	⊖		+			⊖
1: 6400			⊖			

Agglutination	Eigener Stamm	Menin- gitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 13. September	gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich
1: 25	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 50	+++	+++	+++	+++	++	+++
1: 100	++	+++	+++	+++	++	++
1: 200	++	+++	+++	+++	++	++
1: 400	+	++	+++	+++	+ Spur	+
1: 800	+	++	++	++	θ	+
1: 1600	+	++	++	+		+ Spur
1: 3200	+ Spur	+ Spur	+	+		θ
1: 6400	θ	θ	θ	θ		
Dat. 26. September						
1: 25	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1: 50	+++	+++	+++	+++	++	+++
1: 100	++	+++	+++	+++	++	++
1: 200	++	++	+++	+++	++	++
1: 400	+	++	++	++	+ Spur	+
1: 800	+	++	++	+	θ	+ Spur
1: 1600	+ Spur	+ Spur	+	+		θ
1: 3200	θ	θ	+ Spur	θ		
1: 6400			θ			

9) Fr. Anna, Köchin, 20 Jahre alt. Eintritt 22. August 1907. Am 19. August heftige Leibesmerzen, Durchfälle und Kopfschmerzen. Befund: Temp. 39,2°, Puls 88. Zunge trocken, keine Bronchitis, kein Milztumor, keine Roseolen. Diazo neg. 29. Aug. Widal 1:100 pos. Leukocyten 2600. Roseolen, Diazo pos. Leichte Bronchitis. Verlauf leicht. Aus Faeces: Typhus (Mandelbaum'scher Metatyphus). Ungestörte Rekonvaleszenz.

Agglutination	Eigener Stamm	Menin- gitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 29. August	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	äußerst gut bewegl.
1: 25	++	++	+	++	+	θ
1: 50	+	+	θ	+	θ	
1: 100	θ	+ Spur		+		
1: 200		θ		θ		
Dat. 5. September						
1: 25	+++	+++	+++	+++	+!	+++
1: 50	++	++	++	+++	+!	+
1: 100	+	++	++	+++	++	θ
1: 200	θ	+	+ Spur	++	++	
1: 400		+ Spur	θ	+	+	
1: 800		θ		+	θ	
1: 1600				+ Spur		
1: 3200				θ		
Dat. 12. September						
1: 25	+++	+++	+++	+++	+!	+++
1: 50	++	+++	++	+++	++	++
1: 100	++	++	++	+++	++	+ Spur
1: 200	+	+	+	+++	+	θ
1: 400	+	+	+ Spur	++	θ	
1: 800	θ	+ Spur	θ	++		
1: 1600		θ		+		
1: 3200				θ		

Agglutination	Eigener Stamm	Menin- gitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 19. September	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	gut beweglich	äußerst gut bewegl.
1: 25	+++	+++	+++	+++	+	+++
1: 50	++	+++	++	+++	++	++
1: 100	++	++	++	+++	+	+
1: 200	+	++	+	+++	+	+
1: 400	+	+	+	++	+	+
1: 800	+ Spur	+	+	++	+	+
1: 1600	+	+	+	+	+	+
1: 3200	+	+	+	+	+	+
Dat. 2. Oktober						
1: 25	+++	+++	+++	+++	+	++
1: 50	+++	+++	+++	+++	+	+
1: 100	++	+++	+	+++	+	+
1: 200	+	++	+	++	+ Spur	+
1: 400	+	+	+	+	+	+
1: 800	+ Spur	+	+	+	+	+
1: 1600	+	+	+	+	+	+
1: 3200	+	+	+	+	+	+

Bei den weiteren Fällen waren Typhusbacillen nicht isoliert worden, doch ließ der klinische Verlauf keinen Zweifel an der Diagnose Typhus abdom. aufkommen.

10) St. Kathi, Zugeherin, 30 Jahre alt. Eintritt 10. Mai 1907. Seit 3. Mai Unwohlsein, Mattigkeit. Seit 3 Tagen Durchfall. Befund: Temp. 39,5°, Puls 112. Leichte Unruhe, Roseolen, Bronchitis, Milztumor; Leukocyten 3700. Diazo pos. Widal 1:400 pos. Verlauf sehr schwer mit Pneumonie und Ötitis med. pur. d. Rekonvaleszenz ungestört.

Agglutination	Stamm Meningitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 10. August	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut bewegl.
1: 25	+++	+++	+++	+	+
1: 50	+++	+++	+++	+	+
1: 100	++	++	+++	+	+
1: 200	++	+	+++	+	+
1: 400	+	+	++	+	+
1: 800	+	+	++	+	+
1: 1600	+	+	+	+	+
1: 3200	+	+	+	+	+
Dat. 24. August					
1: 25	+++	+++	+++	+	+
1: 50	+++	+++	+++	+	+
1: 100	++	++	+++	+	+
1: 200	+	+	+++	+	+
1: 400	+	+ Spur	++	+	+
1: 800	+	+	++	+	+
1: 1600	+	+	+	+	+
1: 3200	+	+	+	+	+
Dat. 7. September					
1: 25	+++	+++	+++	+	+
1: 50	++	++	+++	+	+
1: 100	++	++	+++	+	+

Agglutination	Stamm Meningitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 7. September	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut bewegl.
1: 200	+	+	++		
1: 400	+ Spur	+	++		
1: 800	+		++		
1: 1600			+ Spur		
1: 3200			+		
Dat. 21. September					
1: 25	++	++	+++	+	+
1: 50	++	++	+++		+ Spur
1: 100	++	++	++		+
1: 200	+	+ Spur	++		
1: 400	+	+	+		
1: 800			+		
1: 1600			+		

11) E. Maria, Schreinergehilfen-Kind, 10 Jahre alt. Eintritt 27. Juni 1907. Seit 14 Tagen Unwohlsein, Kopfschmerzen, Müdigkeit, Appetitlosigkeit. Stuhl angehalten. Befund: 39,5°, Puls 142. Roseolen, Zunge trocken, belegt, Bronchitis, Milztumor. Leukocyten 3900. Diazo pos. Widal 1:400 pos. Verlauf leicht. Ungestörte Rekonvaleszenz.

Agglutination	Stamm Meningitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 4. August	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut beweglich
1: 25	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+++	+++	+++	+ Spur	+++
1: 100	++	+++	+++	+	+
1: 200	++	++	+++		+ Spur
1: 400	+	++	++		+
1: 800	+	+	++		
1: 1600	+ Spur	+	+		
1: 3200	+	+	+		
1: 6400		+	+		
Dat. 18. August					
1: 25	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+++	+++	+++	++	+++
1: 100	++	+++	+++	+	+
1: 200	+	++	++		+
1: 400	+	++	++		
1: 800	+ Spur	++	+		
1: 1600	+	+ Spur	+		
1: 3200		+	+		
1: 6400			+		
Dat. 1. September					
1: 25	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+++	+++	+++	++	++
1: 100	++	+++	+++	+ Spur	+
1: 200	+	+++	++	+	+
1: 400	+	++	++		
1: 800	+ Spur	++	++		
1: 1600	+	+ Spur	+		
1: 3200		+	+		

Agglutination	Stamm Meningitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 15. September	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußert gut bewegl.
1: 25	+++	+++	+++	++	+++
1: 50	+++	+++	+++	++	++
1: 100	++	+++	+++	+ Spur	+
1: 200	+	+++	++	θ	θ
1: 400	+	++	++		
1: 800	θ	+	+		
1: 1600		θ	+ Spur		
1: 3200			θ		

12) W. Marg., Köchin, 25 Jahre alt. Eintritt 29. Juli 1907. Seit 14 Tagen heftige Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Schwäche, Appetitlosigkeit, Frösteln und Hitzegefühl. Seit 3 Tagen Durchfälle. Befund: Temp. 38,1°, Puls 84. Roseolen. Keine Bronchitis, Milztumor. Diazo angedeutet. Leukocyten 4200. Ziemlich leichter Verlauf. Unge störte Rekonvaleszenz.

Agglutination	Stamm Meningitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 10. August	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich
1: 25	++	+++	+++	+	++
1: 50	++	+++	+++	+	++
1: 100	θ	+++	++	+	+
1: 200		++	++	θ	θ
1: 400		++	++		
1: 800		+	+		
1: 1600		+	+		
1: 3200		+	+ Spur		
1: 6400		θ	θ		
Dat. 17. August					
1: 25	++	+++	+++	+	++
1: 50	+	+++	+++	+	++
1: 100	θ	+++	++	+	+ Spur
1: 200		++	++	θ	θ
1: 400		++	++		
1: 800		+	+		
1: 1600		+	+		
1: 3200		+ Spur	θ		
1: 6400		θ			
Dat. 31. August					
1: 25	++	+++	+++	+	+
1: 50	+	+++	+++	+	+
1: 100	θ	+++	++	+	+ Spur
1: 200		++	++	θ	θ
1: 400		+	+		
1: 800		+	+		
1: 1600		+	θ		
1: 3200		θ			
Dat. 14. September					
1: 25	+	+++	+++	+	+
1: 50	+ Spur	+++	+++	+	+
1: 100	θ	++	++	+ Spur	θ

Agglutination	Stamm Meningitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 14. September					
1: 200		++	++	θ	
1: 400		+	+		
1: 800		+	θ		
1: 1600		θ			

13. Sch. Marie, Dienstmädchen, 25 Jahre alt. Eintritt 22. Juli 1907. Seit 14 Tagen etwa heftiges Kopfweg, Appetitlosigkeit, Mattigkeit, Diarrhöen. Befund: Temp. 39,0°, Puls 84. Roseolen. Zunge trocken, belegt. Bronchitis, Milztumor. Leukocyten 4700. Diazo stark pos. Widal 1:200 pos. Verlauf leicht. Ungestörte Rekonvaleszenz.

Agglutination	Stamm Meningitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 12. August	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut bewegl.
1: 25	+++	+++	+++	+ Spur	+
1: 50	+ Spur	+++	+++	θ	θ
1: 100	θ	++	+++		
1: 200		++	++		
1: 400		+	++		
1: 800		+	+		
1: 1600		+ Spur	θ		
1: 3200		θ			
Dat. 19. August					
1: 25	+++	+++	+++	+	+
1: 50	+ Spur	+++	+++	θ	θ
1: 100		++	+++		
1: 200		++	++		
1: 400		+	++		
1: 800		+	+		
1: 1600		+ Spur	θ		
1: 3200		θ			
Dat. 26. August					
1: 25	+++	+++	+++	θ	++
1: 50	+	+++	+++		+
1: 100	θ	+++	+++		θ
1: 200		++	++		
1: 400		++	++		
1: 800		+	+		
1: 1600		+	+		
1: 3200		+ Spur	θ		
1: 6400		θ			
Dat. 9. September					
1: 25	++	+++	+++	θ	+
1: 50	θ	+++	+++		θ
1: 100		+++	++		
1: 200		++	++		
1: 400		++	+		
1: 800		+	+ Spur		
1: 1600		+	θ		
1: 3200		+			
1: 6400		θ			

14) H. Anna, Näherin, 39 Jahre alt. Eintritt 3. August 1907. Wegen Typhusverdacht aus der psych. Klinik verlegt. Befund: Temp. 37,2° (nachts 40,2°), Puls 110. Völlige Benommenheit, läßt unter sich gehen. Roseolen, Milztumor, keine Bronchitis. Diazo später pos. Leukocyten 2400. Widal 1:800 pos. Verlauf sehr schwer: Psychose, Pneumonie, Herzinsuffizienz. Exitus am 28. August. Anatom. Diagnose: Ileocolontyphus der 5. Woche mit Narbenbildung.

Agglutination	Stamm Meningitis	Indien	Scharl	Paraty A	Paraty B
Dat. 8. August	sehr gut beweglich	gut beweglich	sehr gut beweglich	sehr gut beweglich	äußerst gut bewegl.
1: 25	+++	+++	+++	+	+ Spur
1: 50	+++	+++	+++	+	θ
1: 100	+++	++	++	+ Spur	
1: 200	++	++	++	θ	
1: 400	+	+	+		
1: 800	+	θ	θ		
1: 1600	θ				
Dat. 15. August					
1: 25	+++	+++	+++	+	+ Spur
1: 50	+++	+++	++	+ Spur	θ
1: 100	++	++	++	θ	
1: 200	+	+	+		
1: 400	+	+ Spur	+ Spur		
1: 800	θ	θ	θ		
Dat. 22. August					
1: 25	+++	+++	+++	+	θ
1: 50	+++	++	++	θ	
1: 100	++	+	+		
1: 200	+	+ Spur	θ		
1: 400	θ	θ			
Dat. 28. August					
1: 25	+++	+	+	+	θ
1: 50	++	+	+ Spur	θ	
1: 100	+	+ Spur	θ		
1: 200	+	θ			
1: 400	θ				

Die mitgeteilten Tabellen lassen folgende Tatsachen erkennen:

1) Sämtliche Typhusfälle agglutinieren Typhusbacillen, doch machen sich bei den einzelnen Stämmen sehr große Schwankungen bemerkbar. So wird der eine Stamm stark, der andere wenig oder gar nicht agglutiniert. Eine besondere Ursache ist dafür nicht aufzufinden. Mit den übrigen Autoren scheint die Annahme eines verschiedenen Rezeptorenapparates des befallenen Organismus für die Erklärung am einfachsten. Allerdings läßt sich die Tatsache, daß der eigene Stamm fast stets weniger hoch agglutiniert wird als andere (meist Typhus-Indien) nicht ganz damit in Einklang bringen, denn man sollte meinen, daß gerade für den eigenen Stamm sich die meisten Rezeptoren finden müßten. Jedenfalls ist auch der Bau des betreffenden Bakteriumstammes dabei zu berücksichtigen.

2) Die Agglutinationskurven der einzelnen Stämme verlaufen stets parallel während der Krankheitsdauer, d. h. die am Anfang höher agglutinierten Stämme werden auch später höher agglutiniert als die übrigen und umgekehrt. Eine Ausnahme findet sich nur bei Fall 4, wo Stamm Indien bei dem ersten Agglutinationsversuche schwächer als die Mehr-

zahl der anderen Stämme agglutiniert wird, eine Woche später dagegen stärker, welches Verhältnis dann auch beibehalten wird. Derartige Schwankungen und Ueberkreuzungen, wie sie von Falta und Noeggerath¹⁾ beobachtet wurden, kommen niemals vor. Die Höhe des Agglutinationstiters für die einzelnen Stämme schwankt im allgemeinen auf der Höhe der Erkrankung und während der Rekonvaleszenz recht wenig — abgesehen von der aufsteigenden Kurve (und bei Fall 14 vor dem Tode) — und verläuft nicht sprunghaft, wie von manchen Autoren angegeben wird.

3) Hemmungserscheinungen traten in geringem Grade in Versuch 1, 6, 8 ein. Hier erstreckte sich die Hemmung während des Krankheitsverlaufes aber stets nur auf den einen Stamm, und nicht nach und nach, wie bei Falta und Noeggerath²⁾, auch auf andere Stämme. Wie auch die von Wyss³⁾ beschriebenen Typhusfälle zeigen, scheinen derartige Erscheinungen zumeist im Verlaufe von Epidemien aufzutreten.

4) Ein Unterschied im Agglutinationsverhalten zwischen den von Mandelbaum⁴⁾ als „Metatyphus“ bezeichneten Stämmen und den übrigen Typhusstämmen ist nicht zu finden.

5) Paratyphus A und B werden in den meisten Fällen mitagglutiniert, in einigen nicht oder doch nur ganz unbedeutend. Die Höhe ihres Agglutinationstiters scheint im allgemeinen abhängig von der Höhe des Titters für Typhus zu sein, doch existieren zahlreiche Ausnahmen, in denen bei hohem Titer für Typhus, Paratyphus A und B wenig agglutiniert wird (Fall 10, 12, 13, 14) oder in denen umgekehrt (Fall 6 und 8) bei niedrigem Titer für Typhus Paratyphus verhältnismäßig hoch agglutiniert wird, sogar höher als manche der angewandten Typhusstämmen. Für die Praxis ergibt sich, wie auch schon von anderer Seite hervorgehoben wurde, die Notwendigkeit bei Versagen der Agglutination gegenüber einem Stamm, die Probe stets mit mehreren Stämmen möglichst verschiedener Herkunft anzustellen. Ein positives Ergebnis wird dann nur in den allerwenigsten Fällen ausbleiben.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Prof. Friedrich v. Müller für Uebernahme des Referates und für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegengebracht hat, sowie Herrn Dr. v. Hoesslin für die Anregung und Anleitung bei der Arbeit verbindlichst zu danken.

Nachdruck verboten.

Eine neue Anwendungsmethode des Malachitgrünagars zum Nachweis von Bacillen der Typhusgruppe.

[Aus dem Kaiserlichen Institut für experimentelle Medizin, Laboratorium im Fort „Alexander I“ zu Kronstadt. (Leiter: N. Berestneff).]

Von L. Padlewsky.

Unter allen existierenden Methoden zur Isolierung der Typhusbacillen nimmt der von Löffler vorgeschlagene Malachitgrünagar wegen seiner

1) Falta und Noeggerath, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXIII.

2) *ibid.*

3) Wyss, Inaug.-Diss. Bern 1906.

4) Mandelbaum, Münch. Med. Wochenschr. No. 36, 1907.

hervorragenden antiseptischen Wirkung gegenüber vielen Mikroben des Kotes, insbesondere gegenüber dem *B. coli* und wegen seines relativ schwachen, wachstumshemmenden Einflusses auf die Bacillen der Typhusgruppe eine dominierende Stellung ein. In Vereinigung mit anderen Methoden erweist sich der Malachitgrünagar besonders nützlich zum Aufsuchen der Typhus- und vorzüglich der Paratyphusbacillen, so in Kombination mit der von Lentz und Tietz eingeführten sogenannten Anreicherungs-methode. Die Mehrzahl der Untersucher, die sich der Anreicherungs-methode auf Malachitgrünagar bedient haben, haben weit mehr positive Resultate als mittelst anderer Methoden erzielt.

Das soeben behauptete findet, wie aus der Mitteilung von Simon ersichtlich ist, seine Bestätigung in der reichen Praxis der deutschen Untersuchungsanstalten zur Typhusbekämpfung. Eine Station benutzt ausschließlich den blauen Drigalski-Conradi-Agar, während die zehn übrigen den Malachitgrünagar zum Teil in Verbindung mit anderen Verfahren anwenden.

Der Malachitgrünagar hat jedoch auch einige Unvollkommenheiten, die seine Verdienste teilweise schmälern. Als die wichtigste muß der Umstand betrachtet werden, daß er nicht immer den Wuchs der Typhusbacillen, besonders wenn sie aus irgend einer Ursache mit verminderter Lebensfähigkeit behaftet sind, sicher stellt.

Außerdem wird manchmal infolge der unbedeutenden Größe und der nicht genügenden charakteristischen Wachstumsform der 24-stündigen Typhuskolonien ihre Differentialdiagnose erschwert: So kommt es oft nicht zur charakteristischen Furchenbildung und der Agar behält seine grüne Farbe an den Stellen, wo ihr Wachstum stattfindet (keine schwachgelbe Farbenschattierung!). Die dunkelgrüne Farbe des Agars hindert endlich, das Wachstum der Kolonien bei schwacher Vergrößerung zu verfolgen.

Was die antiseptische Wirkung der Malachitgrünagars, die den wichtigsten Faktor bei der Isolierung der Typhusbacillen darstellt, anbelangt, so ist sie inkonstant und hängt von der Natur des Malachitgrünpräparates, von der Dauer und der Art seiner Konservierung, von der Reaktion des Nährbodens und vielen anderen Bedingungen ab.

Alle erwähnten Unvollkommenheiten der gebräuchlichen Anwendungsmethoden des Malachitgrüns erschweren selbstverständlich und komplizieren ziemlich oft die Isolierung der Typhusbacillen aus dem Kote und ihre Diagnose.

Um diesen Unvollkommenheiten abzuweichen, stellten wir uns als Ziel, die Zusammensetzung des Malachitgrünnährbodens so zu gestalten, daß der Typhusbacillus darauf üppig gedeihe, während viele andere Mikroorganismen des Kotes ausgeschaltet würden. Alle zur Züchtung des *B. typhi* geeigneten Nährböden gestatten immer ein gutes Wachsen des *B. coli*: Da, wo es sich um die Erkennung des *B. typhi* handelt, kann man sich über das Gedeihen des *B. coli* nur dann hinwegsetzen, wenn ihr charakteristisches Aussehen sich ohne Schwierigkeit unterscheiden läßt. Das gelingt am besten überall da, wo die Mikroorganismen der Typhus- und Coligruppen verschiedene Farbenreaktionen auslösen.

Der Endo-Nährboden entspricht zum Teil dieser Forderung. Doch gedeiht auf diesem Nährboden eine größere Anzahl von fremden Mikroben als auf dem Malachitgrünagar, außerdem erschwert die darauf auftretende diffuse rote Verfärbung der Coli-Kolonien die Erkennung der in der Nähe liegenden relativ kleinen Typhuskolonien.

Wir haben eine Reihe von Versuchen angestellt, um diese Unvoll-

kommenheiten der Nährböden zu beseitigen, und wir entschlossen uns, folgender Kombination, die uns die besten Resultate geliefert hat, den Vorzug zu geben.

Um die Nährkraft des Agars zu steigern, setzen wir ihm 2 Proz. (statt 1 Proz.) Pepton zu. Dank diesem Gehalt an Pepton kann man ohne Nutrose auskommen, die die Bereitung des Nährbodens erschwert und die meistens auf dem Filter als Niederschlag ausfällt. Außerdem fügen wir 3 Proz. Ochsen-galle (wie es Löffler vorschreibt) und 1 Proz. chemisch reinen Milchzucker hinzu. Als „Reagenz“ verwenden wir durch eine Lösung von schwefeligsaurem Natrium entfärbtes Malachitgrün. Wir stießen dabei auf eine Schwierigkeit: Nach Hinzufügen des verdünnten schwefeligsauren Natriums fällt aus der Malachitgrünlösung ein flockiger Niederschlag aus. Bedient man sich ausschließlich eines durchsichtigen Filtrates, so ist die Farbenreaktion der Kolonien nur sehr schwach angedeutet. Wird das Malachitgrün mit etwas Galle versetzt, so entsteht in diesem Gemische kein Niederschlag, selbst nach Hinzufügen von schwefeligsaurem Natrium.

Die Coli-Kolonien und die übrigen Säurebildner (die Milchzucker zerstören) nehmen eine intensiv grüne Farbe an, während die Bacillen der Typhusgruppe farblos bleiben. Das auf diesem Agar nach 24-stündigem Wachstum erhaltene Bild tritt sehr deutlich hervor. Auf dem farblosen Agar entstehen durchsichtige oder etwas trübe Typhus- und Paratyphuskolonien und ebenso große intensiv grüne Coli-Kolonien. Alle diese Kolonien erreichen auf unserem Agar während dieser Zeitdauer zwei- und dreimal so starke Dimension als auf einfachem Malachitgrün — und selbst auf Endo-Agar.

Die Ränder der Typhuskolonien sind bei schwacher Vergrößerung gekerbt, die Furchenbildung fein ausgebildet; sie sind feinkörnig, durchsichtig, goldgelblich. Die Kolonien sind oft von dem Rande parallel laufenden Kurven umrahmt, die an diejenigen erinnern, mit denen die Meere auf geographischen Karten umrahmt werden. Diese Bilder deuten auf den geschichteten Bau der Kolonien hin. Die Coli-Kolonien sind nach Ablauf derselben Zeitdauer großkörniger, undurchsichtig, grünlich braun, ohne Furchenbildung; was die Ränder anbetrifft, so sind sie entweder glatt, oder denjenigen der Typhuskolonien ähnlich.

Die Dysenteriebacillen und selbst die Choleravibrionen gedeihen ebenfalls üppig auf unserem Agar; die Strepto- oder Staphylokokken des Kotes aber entwickeln sich auf diesem Agar nicht. Nur bewegliche, stäbchenartige Mikroorganismen wimmeln auf ihm.

Wir überzeugten uns noch von der genügenden antiseptischen Kraft dieses Nährbodens, indem wir eine Schale mit Agar einige Stunden offen stehen ließen: die Platten blieben steril. Sie blieben ebenfalls steril, als wir sie mit unreinen Fingern berührten, oder sie mit abgefallenen Kopfhautschuppen bestreuten.

Die die Züchtung der Typhusbacillen begünstigenden Eigenschaften des von uns vorgeschlagenen Agars sind daraus ersichtlich, daß es uns ebenso leicht gelang, die Typhusbacillen aus dem $1\frac{1}{2}$ —2 Monate bei Zimmertemperatur aufbewahrten Kote zu isolieren.

Wenn die Agarplatten einige Tage vor dem Gebrauch bereitet und im Brutschrank aufbewahrt werden, so nimmt der Agar eine grünliche Farbe an. Diese Veränderung übt keinen schädlichen Einfluß auf die Isolierung der Typhusbacillen aus; im Gegenteil, die farblosen Kolonien

derselben treten noch deutlicher hervor und der Agar wird in ihrer Umgebung entfärbt.

Nicht nur die Säurebildung aus dem Milchzucker, sondern höchstwahrscheinlich auch andere, direkt wirkende biologische Prozesse der Mikroorganismen, nehmen an der Oxidation des durch schwefeligsaureres Natrium reduzierten Malachitgrüns teil. Die Reaktion tritt auch in Abwesenheit von Milchzucker auf, aber sie vollzieht sich dann sehr langsam und ist nur schwach angedeutet.

Dank dem von uns vorgeschlagenen Nährboden gelang es uns, den Typhusbacillus aus dem Kote in 70 Proz. zu isolieren. Ebenso leicht war es, die Paratyphusbacillen A und B zu isolieren.

Von 46 Stuhluntersuchungen bei Typhuskranken konnten mit unserer Methode 30mal Typhusbacillen und 2mal Paratyphusbacillen vom Typus A und B gefunden werden. Bei 15 vergleichenden Untersuchungen konnten wir Typhusbacillen auf Drigalski-Conradi-Platten 4mal, auf Endo-Platten 4mal und auf unseren Platten 9mal nachweisen.

Bereitung des Agars.

I. Der fertige 3 Proz. Fleisch- (oder aus Liebigschem Extrakt bereite) Agar mit 2 Proz. Pepton und 3 Proz. Ochsgalle wird mit 1 Proz. chemisch reinem Milchzucker versetzt. Der Zucker muß voraus in einer kleinen Menge destillierten Wassers gelöst werden; die Galle wird mit heißem Dampfe (im Kochschen Apparate) gebrüht und durch Watte filtriert. Es ist nicht nötig, den Nährboden zum zweitenmal nach Zusatz der so behandelten Galle zu filtrieren.

Die Reaktion dieses Nährbodens soll (auf Lackmus) schwach alkalisch sein. Der Agar muß durchsichtig sein. Er wird in Kölbchen zu je 100—200 ccm verteilt und der fraktionierten Sterilisation unterworfen.

II. Je 100 ccm verflüssigten und bis auf 60—65° abgekühlten Agars werden mit dem folgenden Gemische versetzt:

1-proz. wässrige Malachitgrünlösung (Malachitgrün krist. chemisch rein, Höchst)	0,5 ccm,
Galle	0,5 "
10-proz. wässrige Lösung von schwefelig-saurem Natrium pur., pro analysi	0,75—1,0 "

(mit der Messpipette abzumessen).

Das ex tempore zu bereitende Gemenge muß durchsichtig und von sehr schwachgrüner Farbe sein. Man braucht es nicht zu sterilisieren.

Der mit dem Gemenge II versetzte Agar I wird nicht sterilisiert, sondern nach inniger Vermengung in Schalen gegossen, die man offen stehen läßt, bis der Agar erstarrt ist; dieselben werden dann im Brutschrank getrocknet (ca. 15 Minuten mit dem Boden nach oben gewendet!).

Der erstarrte Agar muß durchsichtig gelblich ohne grüne Farbenschattierung sein.

Das Gemisch II, ebenso wie die Lösung von schwefeligsaurerem Natrium müssen immer frisch bereitet werden; was die Malachitgrünlösung anbetrifft, so kann man sie 10—14 Tage aufbewahren.

Der Kot wird am bequemsten mittels eines Glasspatels ausgestrichen, der folgende zwei Krümmungen hat: 1) eine hakenförmige Krümmung wie beim Gräfschen Spatel und 2) eine stumpfwinklige Biegung des Griffes zur Ebene des Spatelhakens. Dank diesem Spatel üben wir auf den Agar einen gleichmäßigen Druck aus, da wir mit dem frei zwischen zwei Fingern gehaltenen Spatel leicht über die Oberfläche des Agars hinfahrend, ausschließlich die Schwere des Spatels wirken lassen. Der von uns vorgeschlagene Nährboden bietet folgende Vorzüge dar:

1) Günstige Bedingungen für ein schnelles und üppiges Wachstum der Bacillen der Typhusgruppe.

2) Antiseptische Wirkung auf viele andere Mikroorganismen des Kotes.

3) Dank der Farbenreaktion scharf hervortretender Unterschied zwischen den Kolonien der Typhusgruppe einerseits und denjenigen des *B. coli* und anderer Säurebildner anderseits.

4) Leichte Diagnose und Isolierung der Typhusbacillen in den Fällen, wo ihre Kolonien unmittelbar an diejenigen des *B. coli* anstoßen, dank der Abwesenheit jeglicher diffuser Färbung.

5) Die Möglichkeit, die Aussaat mit einer ziemlich großen Menge Kot vorzunehmen.

6) Leichte Bereitung des Nährbodens aus billigen Stoffen.

Wir nehmen für jede Kotaussaat höchstens 3 Schalen (12—14 ccm im Durchmesser), von denen die erste mit 5—8 Tropfen flüssigen oder verflüssigten Kotes beschickt wird. Es gelang uns manchmal die Typhuskolonien schon in der ersten Schale zu erkennen und zu isolieren.

Kronstadt, Februar 1908.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung, von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Anastasiades, Sophokles J., Ein Fall von Febris recurrens, p. 466.

Baginsky, Adolf, Zur *B. pyocyaneus*-Infektion im kindlichen Alter, p. 427.

Bartel, Julius und Neumann, Wilhelm, Das Verhalten der Tuberkelbacillen in „indifferenten“ Flüssigkeiten, p. 401.

Bertarelli, E. und Cecchetto, E., Beitrag zur Aetiologie des Trachoms, p. 432.

Eisenberg, Philipp, Studien zur Ektoplasmatheorie. I., p. 415.

Fraenkel, C., Geißelfäden an den Spirillen des Rekurrens- und des Zeckenfiebers, p. 471.

Galli-Valerio, B., Spirochétiose des poules déterminée à Lausanne avec *Argas persicus* Fischer de Tunisie, p. 494.

Gonder, Richard, Spirochäten aus dem Darmtraktus von *Pinna*: Spirochaete pinnae nov. spec. und Spirochaete Hartmanni nov. spec., p. 491.

Gross, B. G., Vergleichende Untersuchungen über die Agglutination von Typhus- und Paratyphusbacillen im Verlaufe von Typhuserkrankungen, p. 519.

Liebermann, L. v., Zur Abwehr, p. 511.

Meyer, Kurt, Erwiderung auf die Abwehr v. Liebermanns, p. 512.

Mühlens, P. und Löhe, Ueber Züchtungsversuche der Spirochaete pallida, p. 487.

Ottolenghi, D., Untersuchungen über *Trypanosoma Brucei* und über *Tr. equinum*, p. 473.

Padlewsky, L., Eine neue Anwendungsmethode des Malachitgrünagars zum Nachweis von Bacillen der Typhusgruppe, p. 540.

Pfeiffer, E. und Friedberger, E., Kommt der bei der aktiven Immunisierung auftretenden negativen Phase eine Bedeutung im Sinne einer erhöhten Empfänglichkeit des vaccinierten Individuum zu? p. 503.

Rodella, A., Magencarcinom und Milchsäurebacillen (*Boas-Opplerscher Bacillus*, *Bacillus gastrophilus* und *Bacterium gastrophilum* Lehmann-Neumann, *Bacillus acidophilus* und *Bac. bifidus communis*), p. 445.

Saul, E., Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren, p. 440.

Unterberger, Franz, Der Oxyuris vermicularis in seiner Beziehung zur Darmwand und Appendicitis, p. 495.

Wretowski, T., Zwei neue Agglutinationsmethoden, p. 513.

Yakimoff, W. L. und Kohl, Nina, Zur Infektionsmöglichkeit der Hühner mit Dourinetrypanosomen, p. 483.

Ueber die Reduktionserscheinungen der Bakterien. Experimentelle Untersuchungen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Königl. Universität Palermo.
Direktor: Prof. L. Manfredi.]

Von Dr. E. Carapelle.

Die alte Vorstellung, es besäße die Tierzelle einen dem der Pflanzenzelle entgegengesetzten funktionellen Chemismus, ist heute hauptsächlich durch die Studien Gautiers¹⁾ der Tatsache gewichen, daß ein derartiger Unterschied nur dem Grade nach besteht. Die Pflanzenzelle ist gleich der Tierzelle oxydations- und reduktionsfähig. Und obschon die Oxydationsprozesse vorzugsweise wegen ihrer großen Bedeutung in der Auslegung der Entfaltung der Lebensfunktionen eingehend studiert worden sind, so ist doch die Kenntnis der Reduktionsprozesse nicht weniger wichtig, da auch sie einen Index für die Lebenstätigkeit bilden. Der einen Bestandteil von mehr oder weniger beständigen Verbindungen bildende Sauerstoff wird in verschiedener Weise entzogen und verwertet, während zur gleichen Zeit reduzierende Substanzen entstehen. In diesen Fällen ist die Reduktion der Ausdruck der Art und Weise, wie die lebende Zelle das komplexe molekuläre Gebäude, mit dem sie in innigen Kontakt kommt, zu disintegrieren strebt²⁾.

Im Reiche der Mikroorganismen werden Reduktionserscheinungen besonders durch die Fäulnis mikroorganismen beobachtet, welche den organischen Stoffen Sauerstoff entziehen und den Wasserstoff in Freiheit setzen, welcher besondere übelriechende Verbindungen bildet, wie Schwefelwasserstoff, Phosphorwasserstoff usw. Ein weiteres Beispiel von Reduktionen durch Bakterien sind die Buttersäuregärungen, die von vielen Substanzen gebildet werden, wie Zucker, Stärke, Weinsteinsäure, Zitronensäure, Apfelsäure, Schleimsäure, Eiweißstoffe, und wo man stets Bildung von Buttersäure, Kohlensäureanhydrid und Wasserstoff zusammen, häufig mit sonstigen Fettsäuren (Essig-, Bernstein-, Valerian-, Weinsteinsäure) bekommt



Ebenso ist die Reduktion der Nitrate und des Wasserstoffsperoxyds und die Bildung von Schwefelwasserstoff zu erwähnen, welches häufig infolge von Reduktionserscheinungen entsteht.

Eine besonders energische reduzierende Wirkung ist den Anaëroben zuzuschreiben, für die diese Eigenschaft die Quelle der Lebensenergie ausmacht.

Die reduzierenden Eigenschaften der verschiedenen Mikroorganismen hat man mit Hilfe von besonderen Farbstoffen oder mittelst solcher chemischer Stoffe erkennen und nachweisen wollen, welche, reduziert, durch ihre Farbe charakteristische Niederschläge bedingen.

Unter den ersteren empfahl Behring³⁾ Lackmus in Mischung mit

1) Arch. de Physiolog. T. XXV. Teil I. 1893.

2) Pozzi-Escot, Phénomènes de réduction dans les organismes. Paris 1906.

3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI—VII. 1889. p. 117—171.

festen Nährböden, so wie Buchner¹⁾ dieselbe Substanz in flüssigen Böden verwendet hatte. Ebenso wurden Methylenblau, Indigokarmin, Rosanilin etc. stets in Mischung mit festen oder flüssigen Nährböden zur Anwendung gebracht; von den zweiten wurde von Klett²⁾ das Natriumselenit und Tellurit verwertet.

Aus den Untersuchungen Spinass³⁾, welcher fast gleichzeitig mit Cahen⁴⁾ zuerst die Reduktionserscheinungen in ihrem Wesen und nicht als einfache Hilfsmittel für die Differentialdiagnose zwischen den Bakterienarten studierte, ergibt sich, daß die Reduktion durch eine große Anzahl von Bakterien eintritt, daß fast sämtliche die Gelatine verflüssigenden Bacillen die Farbstoffe reduzieren, daß bei Zusatz von reduzierbaren Substanzen zu schon länger entwickelten Kulturen die Reduktionserscheinung in der gleichen Weise beobachtet wird, wie in den in Entwicklung begriffenen Kulturen, daß die Reduktionserscheinung auf der Bakterientätigkeit beruht.

In der Folge widerlegt Rozsahegyi⁵⁾ bei Beschäftigung mit dem Verhalten der einzelnen Bakterienarten gegenüber den mit verschiedenen Substanzen (Methylviolett, Gentianaviolett, Fuchsin, Vesuvin, Methylenblau, Cochenilletinktur) gefärbten Nährböden einige Punkte aus der Arbeit Spinass und gibt der Vermutung Ausdruck, daß die Reduktionserscheinung nicht allein der Zellfähigkeit des lebenden Protoplasmas zuzuschreiben sei, sondern daß daran auch die Stoffwechselprodukte der Mikroorganismen beteiligt sein müßten.

Der gleichen Ansicht ist auch Baginsky⁶⁾, während Smith⁷⁾ zwar annimmt, daß die Intensität der Reduktion von der Art und Temperatur abhängig sei, die Erscheinung aber einer Funktion des Bakterienprotoplasmas zuschreibt, welche in einigen Fällen auch eine Zeitlang nach dem Absterben der Bacillen beobachtet werden kann.

Diesen Untersuchungen entgegen stehen diejenigen von Müller⁸⁾, nach dem die Reduktionsprozesse auf den Stoffwechselprodukten beruhen, welche vielleicht in statu nascendi entstehen und an der Luft höchst veränderlich sind. Die Intensität der Reduktion wäre außerdem dem Bakterienwachstum proportional und der Index des verschiedenen Sauerstoffbedürfnisses.

Die Arbeit Müllers, welche eine sorgfältige kritische Besprechung der bis zum Jahre 1899 bekannten Literatur darstellt, legt auch einige wesentliche Punkte über die Verwendung der reduzierten Substanzen fest und die Bedingungen, denen diese genügen müssen. Im großen und ganzen wird zu den Untersuchungen der vorausgehenden Autoren, was Konstitution und Modalität der Reduktionserscheinungen angeht, wenig Neues hinzugefügt und einfach auf Grund von Experimenten die Vorstellung bekräftigt, daß die Reduktion auf Stoffwechselprodukte zurückzuführen sei.

Wolff⁹⁾ vertritt über den Mechanismus der Reduktion die Anschauung, daß die Mikroorganismen dem Nährboden und nicht dem Farb-

1) Arch. f. Hyg. Bd. III. 1885. p. 361.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIII. 1900. p. 137.

3) Centralbl. f. Bakt. Bd. II. 1887. p. 71.

4) Zeitschr. f. Hyg. Bd. II. 1887. p. 386.

5) Centralbl. f. Bakt. Bd. II. 1887. p. 418.

6) Deutsche med. Wochenschr. 1888.

7) Centralbl. f. Bakt. Bd. XIX. 1896. p. 181.

8) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVI. 1899. p. 51—801.

9) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVII. 1900. p. 849.

stoff direkt Sauerstoff entziehen und daß das Reduktionsvermögen nicht dem aufgenommenen Sauerstoff proportional ist.

Die Behauptung Wolffs ist bereits von Müller gewürdigt worden, insofern man übrigens weiß, daß Reduktion entweder Entziehung von Sauerstoff oder Addition von Wasserstoff bedeutet; nun ist es einleuchtend, daß die Mikroorganismen Sauerstoff vorzugsweise denjenigen Substanzen entziehen, welche ihn nicht nur am leichtesten abgeben, sondern auch am leichtesten durch die Enzyme, welche sie zwecks ihres Lebens absondern, angegriffen werden, und solche Substanzen können nur die Eiweiße und Peptone vor den Farbstoffen sein, welche häufig auch giftig sind.

Außerdem läßt sich der Schluß Wolffs nicht verallgemeinern und ist unter Vorbehalt anzunehmen, da man beim Lackmus, welcher durch Entziehung von Sauerstoff reduziert wird, annehmen kann, daß es eben die Mikroorganismen seien, welche diesen Sauerstoff an sich reißen, da das Gegenteil noch nicht bewiesen worden ist. Daß sodann die Sauerstoffaufnahme dem Reduktionsvermögen nicht proportional ist, darf nicht wunder nehmen, da es keine Reaktionen sind, welche stöchiometrisch verlaufen.

Er kommt außerdem auf das bereits durch die vorausgehenden Autoren erschöpfte Argument zurück, um zu bestätigen, daß unter den Farbstoffen sich solche befinden, welche sich vorzugsweise zum Nachweis der reduzierenden Eigenschaften einiger Bakterien eignen (Lackmus für den Choleravibrio usw.). Wolff nimmt jedoch an, daß die Bakterien indirekt reduzierten; daraus folgt, daß es die Stoffwechselprodukte seien, welche die Hauptrolle in dem in Rede stehenden Prozeß spielen.

Fast gleichzeitig mit der Arbeit Wolffs veröffentlichte Klett¹⁾ seine Arbeit über die reduzierenden Eigenschaften, und nahm an, daß diese auf die Bakterien und nicht auf die Stoffwechselprodukte zurückzuführen seien. Er benutzte eine 2-proz. Natriumselenit- oder Telluritlösung und beobachtete die Reduktion daran, daß die Kolonie auf der Platte, die Bouillon-, Agar- oder Gelatinekultur sich rot (reduziertes Selen) oder schwarz färbt (reduziertes Tellur). Diese Reduktion ist außerdem abhängig von der Temperatur, der Bakterienart, dem Alter der Kultur und hat keine Beziehung zu der Virulenz.

Klett stellt verschiedene Kategorien von reduzierenden Bakterien auf, und von stark reduzierenden Bakterien gelangt man zu solchen, welche diese Eigenschaft in ganz geringem Grade zeigen, wie der *Actinomyces*.

Neben dem Natriumselenit und Tellurit versuchte Klett das Natriumphosphid und -Sulfid, doch konnte dieser Versuch von vornherein als unnütz betrachtet werden, da diese Phosphide und Sulfide nur mit energischen chemischen Mitteln reduzierbar sind, und in der Tat war das Resultat ein negatives. Eine weitere Betrachtung, die die negative Voraussicht des Experiments bestärkt, ist, daß je mehr man sich in der Klasse der Metalloide den Metallen nähert, desto leichter die Reduktion ist, und nach den Versuchen von Klett selbst können wir folgende Stufenfolge feststellen: Selen, Tellur, Arsen (Gosio). Es war demnach vorauszusehen, daß die Schwefel- und Phosphorverbindungen viel weniger reduzierbar sein mußten, während die Verbindungen des Tellurs leichter als die des Selen zur Reduktion geeignet sein mußten, und dies be-

1) l. c.

stätigte Klett in der Tat auch als in größerer Quantität vertragbare Dosis, wie bei dem Natriumselenit.

Cathcart und Hahn¹⁾ empfahlen für die vergleichenden Untersuchungen über das Reduktionsvermögen der Bakterien Suspensionen von 1—2-tägiger Agarkultur (ca. 0,2 g in 10 ccm) unter Zusatz von Methylenblaulösung; in dieser Weise gibt die für die Entfärbung erforderliche Zeit den Maßstab für das Reduktionsvermögen der betreffenden Bakterienart. Dieses hängt außerdem ab von der Quantität der Impfung, von der Temperatur, deren Optimum gegen 37° schwankt, und kann als Maximum bei einigen Arten noch bei 55° C eintreten, bei 60° jedoch verschwindet bei den meisten Arten das Reduktionsvermögen. Die Antiseptica vermindern das Reduktionsvermögen, in geringerem Grad Chloroform und Toluol, starker Zusatz von Natriumsulfat, Glycerin, Rohrzucker konserviert es; bei längerer Einwirkung von 50-proz. Rohrzucker, Glycerin bei 25—37° C findet eine Erhöhung der reduzierenden Eigenschaften vielleicht durch Lösung des Bakterienprotoplasmas statt.

Die Agglutination schädigt, wenigstens beim Cholera vibrio, das Reduktionsvermögen nicht; gleicherweise besteht keinerlei Zusammenhang zwischen Virulenz, Toxingehalt einer Kultur und Reduktionsvermögen; der ausgepreßte Saft der Bakterien gab keine Reduktion; während in den Trockenpräparaten die Bakterien, obwohl abgestorben, doch noch ein schwaches Reduktionsvermögen besaßen.

Mit diesen Untersuchungen wird ein neuer Faktor hereingezogen, eine Zymase. Doch ist diese Hypothese die am wenigsten wahrscheinliche, und sie ist, um offen zu sein, etwas gekünstelt, da die von Cathcart beobachteten Erscheinungen gut erklärlich sind, ohne einen Gärungsprozeß anzunehmen.

Jedenfalls bleibt die Vorstellung des Autors, daß die Reduktionsprozesse der Bakterien auf die Mikroorganismen, wenn auch schon infolge einer besonderen Sekretion, aber nicht auf die Stoffwechselprodukte zurückzuführen sind.

Diese Untersuchungen scheinen bis zu einem gewissen Punkt mit denen Maassens²⁾ übereinzustimmen, welcher mitteilt, zur Erklärung des Zustandekommens des Aethylselenits und Tellurits den Bakteriensaft ausgepreßt zu haben, und während dieser noch schwach reduzierte, war er nicht imstande, das Aethylselenit oder Tellurit zu bilden. Daraus wird geschlossen, daß, während die Fähigkeit, Aethylverbindungen zu liefern, der lebenden Zelle zukommt, die der Reduktion auf anderen extracellulären Substanzen beruhen kann. Er sagt: „die reduzierende Eigenschaft der Zellen (bei Tieren und Mikroorganismen) durch eine Substanz bedingt ist, die auch losgelöst von der Zelle ihre Wirkung entfalten kann“.

Später aber widerspricht sich derselbe Autor³⁾ und nimmt an, daß die reduzierende Eigenschaft ein Attribut des Bakterienprotoplasmas ist. In der Tat wäre der Bakteriensaft imstande, Mythylenblau zu entfärben, das Selen und Tellur zu reduzieren, Schwefelwasserstoff aus Schwefel und all denjenigen Substanzen zu bilden, welche ihn in unbeständiger Verbindung enthalten (Eiweiße, Peptone usw.). Er glaubt, es seien katalytische Stoffe, welche dadurch, daß sie den nascierenden

1) Arch. f. Hyg. Bd. XLIV. 1902. p. 295.

2) Arbeiten a. d. K. Gesundheitsamt. Bd. XVIII. 1902. p. 475.

3) Arbeiten a. d. K. Gesundheitsamt. Bd. XXI. 1904. p. 377.

Wasserstoff an sich reißen, Hydrüre bildeten, welche dann ihrerseits diesen Wasserstoff abgeben und so den Sauerstoff aktivieren. Die Vorstellung von dem Hydrür grenzt an die von der Zymase, welche von Cathcart angenommen wurde.

Resumiert man, so sieht man also, wie diese Reduktionsprozesse stets in verschiedener Weise ausgelegt worden sind, und will man nun die Anschauungen gut abgrenzen, so kann man auf die eine Seite diejenigen stellen, welche behaupten, es beruhten die Reduktionen auf den Stoffwechselprodukten (Rozsahegyi, Baginsky, Müller, Wolff), und auf die andere Seite diejenigen, welche behaupten, es sei diese Eigenschaft ein Attribut der Bakterienzelle (Cahen, Spina, Smith, Klett, Maassen, Cathcart).

Für die erste Anschauung spricht die Tatsache, daß mittelst Strich- oder Stichkulturen die Farbstoffe sich in dem von der Kultur entfernt liegenden Teil entfärben (Fernwirkung), was durch die Diffusion der Substanzen des Bakterienstoffwechsels zu erklären ist.

Für die zweite Anschauung spricht die Tatsache, daß die Reduktionserscheinung mit der Anwesenheit des Bakterienlebens verknüpft ist und mit den Bacillensäften erhalten wird.

Betrachten wir letztere Frage etwas näher: Spina und Rothberger¹⁾ erhitzten die Kulturen auf 60—70° C, um sie abzutöten, und fanden, daß jetzt bei Zusatz von Farbstoffen die Reduktion ausblieb; doch Spina selbst erhob den Einwurf, daß möglicherweise die Erwärmung die Stoffwechselprodukte veränderte.

Cahen beobachtete, daß bei Zusatz von Farbstoffen zu alten Kulturen, in welchen sich demnach Quantitäten von Stoffwechselsubstanzen finden mußten, die Reduktion nicht eher eintritt, als in einer jungen Kultur, doch auch hier bleibt der Einwand, daß sowohl der Wasserstoff in statu nascendi, wie andere sehr unbeständige Substanzen reduzierender Natur sich haben eliminieren oder auf andere Bestandteile des Nährbodens wirken können.

Smith filtrierte die Kulturen, und erzielte in dem Filtrat erst nach 24—48 Stunden Reduktion, d. h. in derselben Zeit, welche die sterile Probebouillon zur Entfärbung gebrauchte. Doch auch hier fehlt der Beweis dafür, daß es nicht die Stoffwechselprodukte sind, welche reduzieren, da es möglich ist, daß bei der Filtration durch den Chamberland-Filter die innige Vermischung des filtrierenden Materials mit der Luft die reduzierenden Produkte zur Reoxydation bringt.

Klett stützt seine These auf die beiden folgenden Erscheinungen:

1) Untersucht man frisch eine auf einem Natriumselenit- oder Telluritnährboden entwickelte Kolonie, so sieht man Körnchen mit den Bakterien untermischt und innerhalb der Bakterien selbst.

2) In den auf Nährböden mit Selenit- oder Tellurit entwickelten Kolonien beobachtet man die Reduktion nur an der Stelle, wo das Wachstum der Kolonie erfolgt, und nicht in der Ferne.

Nach Klett absorbieren demnach die Bacillen das Selen- oder Tellursalz, reduzieren es und stoßen dann das reduzierte Metalloid aus.

Nun könnten die Körnchen sehr wohl den Bakterien aufgelegt und nicht in ihrem Körper enthalten sein; dies würde anzeigen, daß die Mikroorganismen bei ihrer Entwicklung in situ auf einer bestimmten Stelle der Platte von derselben das *pabulum nutritivum* aufnehmen; dieses

1) Zitiert bei Klett.

enthält Selen, welches jedoch außerhalb der Zelle verbleibt und durch die reduzierenden Substanzen, welche an jener Stelle sich bilden, reduziert wird.

Auf diese Weise ist die Reduktion eine lokale, und kann nicht in der Ferne eintreten, da die Zeit dazu nicht da ist, und andererseits ist sie begrenzt, da die Kolonie auf einer bestimmten Agarzone wächst, und demnach keine übermäßigen Quantitäten reduzierender Produkte vorhanden sind, die auch imstande wären, zu diffundieren.

Es läßt sich noch einwerfen, daß das Selenit keimtötend wirkt, und alsdann werden diejenigen von den Mikroorganismen, welche durch Lebensbedingungen genötigt sind, das Selsalz in ihr Inneres aufzunehmen, abgetötet, während diejenigen, welche der deletären Wirkung entgehen, sich vermehren. Daraus ergibt sich ein Gemisch von lebenden und abgestorbenen Bakterien, und in letzteren würde durch Leichenprozesse die Reduktion erfolgen, woraus die den Bakterien einverleibten Metalloidskörnchen und die rote oder schwarze Färbung der Kolonie folgen.

Auch die Untersuchungen Cathcarts sprechen nicht für eine reduzierende Wirkung des Bakterienprotoplasmas, da er tatsächlich keine Reduktionen mit diesem Mittel erzielte, und er greift zur Annahme eines Enzyms, ohne einen ausreichenden Beweis dafür zu liefern.

Aber wenn auch, wie Maassen behauptet, Reduktion beobachtet worden wäre, so lassen sich doch stets Leichenerscheinungen oder Bestandteile des Eiweißmoleküls ins Feld führen, welche in Freiheit gesetzt werden (Nukleinsäure, Xanthinkörper usw.) Maassen beschreibt außerdem nicht die bei seinen Untersuchungen beobachtete Technik, und erwähnt nur, daß er mit alkalischer, amphoterer oder neutraler Lösung arbeitete, und ich bemerke hier nur, daß in (durch kaustische Alkalien) alkalischer Lösung das Eiweiß an und für sich zur Bildung von Schwefelwasserstoff Anlaß geben kann. Auch wenn man die Tatsache, einen vollkommen sterilen Saft erhalten zu haben, akzeptiert, ist dann der Anfang einer Autolyse und demnach das Freiwerden von reduzierenden Substanzen nicht möglich, wenn etwa diese Protoplasmen nicht sofort verwertet wurden?

Wie man also sieht, zeigt sich das von mehreren Seiten in Angriff genommene Problem noch nicht vollkommen gelöst; ich habe mir daher vorgenommen, vor allem zu untersuchen, welche Aenderungen der Reduktionsprozeß sowohl durch gewisse gegebene physikalisch-chemische Einflüsse in dem Substrat vor, während und nach der Entwicklung reduzierender Bakterien, wie durch das Variieren gewisser biologischer Eigenschaften eines und desselben Mikroorganismus erfährt, und zu erklären zu suchen, ob der Reduktionsprozeß auf die Bakterien oder auf ihre extracellulären Stoffwechselprodukte zurückzuführen ist ¹⁾.

1) Bei meinen Versuchen habe ich von aeroben Bakterien Gebrauch gemacht, mit den Anaeroben habe ich mich nicht beschäftigt. Es ist in der Tat bekannt, daß die anaeroben Mikroorganismen im allgemeinen mit einem starken Reduktionsvermögen ausgerüstet sind, und dies erklärt sich dadurch, daß dieselben notwendigerweise den Sauerstoff den Nährstoffen entziehen müssen, mit denen sie in Kontakt kommen. Ich bemerke nur, daß ich bei den zitierten Autoren fast stets die Arbeit von Kitasato und Weil (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VIII. 1890) angeführt gefunden habe. Ueber diesen Punkt jedoch muß man sich wohl klar werden: Kitasato und Weil studierten nicht die Reduktionserscheinungen der Bakterien, sondern suchten nur nach einer Substanz, welche durch Absorbierung des Luftsauerstoffes die schädliche Wirkung des letzteren auf die Anaeroben eliminiere, derart, daß ihr Leben sich aerob entfalten könnte, und

Wahl des reduzierbaren Farbstoffes.

Es ist nicht gleichgültig, ob man die eine oder andere Substanz zum Nachweis der reduzierenden Eigenschaften der Bakterien wählt, denn, während einige durch Addition von Wasserstoff reduziert werden, erfahren andere denselben Prozeß durch Entziehung von Sauerstoff, und in dieser Beziehung betrachte ich den Rat Müllers als sehr nützlich, Substanzen von bekannter chemischer Konstitution zu benutzen, um uns die Erscheinung gut veranschaulichen zu können.

Ebenso muß man sich die übrigen, von Müller geforderten und zum Ausdruck gebrachten Bedingungen gegenwärtig halten: Weder die Substanz, noch ihr Endprodukt soll giftig sein; sie soll löslich sein, weder bei der Sterilisation, noch durch die organischen Substanzen der Kulturböden darf Reduktion eintreten.

Ich habe indigosulfosaures Natrium, Indigokarmin, Lackmus, Lackmoid und Methylenblau versucht. Bei einer letzten Reihe von Untersuchungen benutzte ich auch Natriumselenit.

Von den Farblösungen in einer Konzentration von 1 Proz. gab ich wenige Tropfen in sterilisierte Gelatine-, Agar-, Bouillonröhrchen.

Von den oben aufgeführten Substanzen werden Lackmus und Lackmoid nicht durch naszierenden Wasserstoff reduziert, es erfolgt die Reduktion bei ihnen demnach durch Entziehung von Sauerstoff, während

zu diesem Zweck bedienten sie sich des Hydroxylamins, der drei (o-, m- und p-) Dioxybenzole, des Eikonogen (Natriumsalz der Amidonaphtol-Monosulfosäure), Phenylhydrazinchlorhydrats, Chinons, Acetaldehyds, Benzaldehyds, Natriumformiats, alles sauerstoffgierige Substanzen und deshalb reduzierend und nicht reduzierbar. In einer letzten Reihe von Versuchen benutzten sie zwar indigosulfosaures Natrium, welches durch die reduzierenden Eigenschaften der Bakterien reduziert wurde, aber offenbar wollten sie den Zweck auf indirektem Weg erreichen. Die durch die Bakterien reduzierte, sauerstoffgierige Substanz reoxydiert sich in Kontakt mit dem atmosphärischen Sauerstoff und läßt das Leben der Anaëroben ungestört.

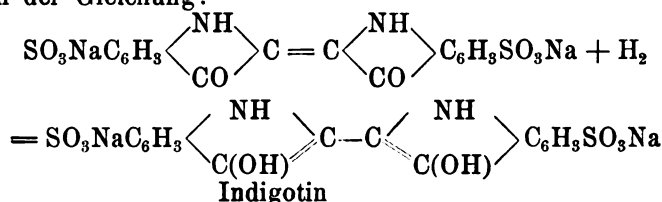
Kitasato und Weil gehen auf die uns beschäftigende Frage nicht näher ein, und kamen auf das Argument nur aus Zweckmäßigkeitsgründen für ihre Untersuchungen und aus sonst keinem anderen Grunde.

Klett versuchte auch, zur Aufklärung der reduzierenden Eigenschaften der Anaëroben beizutragen und zur Lösung der Frage, ob der Sauerstoff für die Anaëroben als Atom vorliegen muß (O—), während er für die Aëroben molekular (O—) sein muß, stellt er anaërobe Kulturen mit Aëroben (*Milzbrandbacillus*, *Bacillus subtilis* und *Bacillus fluorescens liquefaciens*) an, um zu sehen, ob diese Bakterien imstande seien, sich atomförmigen, aus dem Selenit durch Reduktion in Freiheit gesetzten Sauerstoff anzuzeigen. Er erzielt aber keine befriedigenden Resultate, da die Entwicklung eine sehr beschränkte ist.

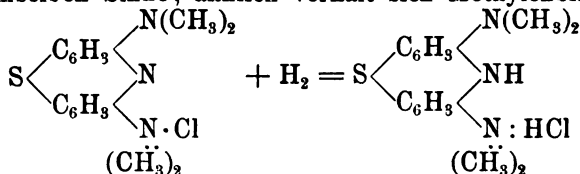
In diesen Bedingungen glaube ich nicht, daß sich die Lösung des Problems finden läßt, da es möglich ist, daß der Sauerstoff als Atom Aëroben bei so tiefgehend veränderten Lebensbedingungen nicht zuträglich ist, und der Stoffwechsel kann als derartig alteriert angenommen werden, daß er entweder die Verwertung des im Selenit verfügbaren atomförmigen Sauerstoffes nicht zuläßt, oder daß keine solchen reduzierenden Substanzen sich bilden, daß dadurch das Selenisalz reduziert würde; und hierin würde sich auch ein Beweis dafür finden, daß es die Stoffwechselprodukte sind, denen das Reduktionsvermögen zufällt. Klett schreibt: „Es ist also der bei der Reduktion entstehende Sauerstoff nicht in der Lage, für die Bakterien den Luftsauerstoff zu ersetzen.“ Spricht er nun von dem Sauerstoff, der durch einen Reduktionsprozeß zur Verfügung gestellt werden könnte, oder will er sagen, daß tatsächlich bei den oben erwähnten, anaërob gezüchteten Arten eine Reduktion eintrat, der in Freiheit gesetzte Sauerstoff aber nicht verwertet werden konnte, wodurch nur eine beschränkte Entwicklung erfolgte? Diese Stelle ist zweifelhaft, da nicht gesagt wird, ob Reduktion eintrat oder nicht.

Die reduzierenden Eigenschaften der Mikroorganismen sollten von verschiedenen Autoren auch für die Differentialdiagnose der Art verwertet werden, von diesen Nebenuntersuchungen aber, die nunmehr eingehend untersucht sind, sehe ich ebenfalls völlig ab.

das indigosulfosaure Natrium durch Addition von Wasserstoff reduziert wird nach der Gleichung:



Bei dem Indigokarmin, welches ein Kaliumsalz ist, verläuft die Reaktion in demselben Sinne; ähnlich verhält sich Methylenblau:



Wurden nun die Röhrcchen einige Tage stehen gelassen, so habe ich in allen, mit Ausnahme derjenigen mit Lackmoid- und Methylenblaulösung, in mehr oder weniger schwankender Zeit einen Wechsel der Farbe bis zur vollständigen Entfärbung in einigen Fällen wahrgenommen.

Dies ist auch bei Methylenblau eingetreten, wenn das Nährsubstrat in den es enthaltenden Röhrcchen längere Zeit hindurch gekocht wurde.

Die Lackmoidlösungen wurden durch die Einwirkung keiner der von mir untersuchten Bakterienarten entfärbt, während Methylenblau seinerseits den Uebelstand hatte, bei einer bestimmten Anzahl von Bakterien eine Giftwirkung auszuüben. Trotzdem habe ich es mit Vorliebe vor den übrigen Farbstoffen benutzt, da ich, mit Bakterien experimentierend, auf die eine solche Giftwirkung nicht ausgeübt wurde, so jeden Einfluß seitens des benutzten Kulturbodens eliminieren konnte.

Variation des Reduktionsvermögens in den verschiedenen Nährböden.

Die in Untersuchung genommenen Nährböden waren Bouillon, Gelatine, Agar, Kartoffelgelatine, Kartoffel und eine folgendermaßen zusammengesetzte Minerallösung:

Destilliertes Wasser	200 g
Ammoniumtartrat	2 "
Kaliumphosphat	2 "
Magnesiumsulfat	1,0 "
Dreibasisches Calciumphosphat	1 "

Diese Nährböden wurden nach Sterilisierung in Röhrcchen gebracht und mit einigen Tropfen ebenfalls sterilisierter Farblösung versetzt.

Die von mir benutzten Lösungen waren, wie oben erwähnt, 1-proz. Lösungen von Methylenblau, Indigokarmin, Lackmoid, Lackmus und indigosulfosaurem Natrium.

Die Nährböden wurden nach ihrer Färbung mit einer der für den Versuch ausgewählten Bakterie geimpft. Die Entfärbung trat am raschesten ein in den Bouillon- und Gelatineröhrcchen, weniger rasch in denjenigen mit Agar, noch weniger in denjenigen mit Kartoffelgelatine, ausgeblieben ist sie in den Kartoffeln, den Mineralböden und in sämtlichen mit Lackmoid gefärbten Nährböden.

In anderen zur Kontrolle dienenden, d. h. nicht geimpften, Röhrchen trat keine Entfärbung ein, abgesehen von einem leichten und einige Male ausgesprochenen Farbumschlag in den Röhrchen mit Indigokarmin- und indigosulfosauren Natriumlösungen.

Da in den Mineralböden mit den benutzten Bakterien keinerlei Reduktion erzielt wurde, habe ich sehen wollen, ob ich sie nach Einimpfung von Gartenerde erhalten konnte. Da ich die Flüssigkeit 24 Stunden nach der Impfung trüb fand, habe ich einige Tropfen dieser Flüssigkeit in ein anderes, dasselbe Nährsubstrat enthaltendes Röhrchen gebracht und nach 24 Stunden einen Tropfen Methylenblaulösung zugesetzt. Nun begann nach 32—34 Stunden die Entfärbung, welche nach 72 Stunden eine vollständige war; auf dem Boden des Röhrchens jedoch bemerkte man einen geringen, intensiv blau gefärbten Satz, welcher verschwand, wenn man nach Schütteln eine sukzessive Entfärbung des Nährbodens abwartete. Eine wichtige Erscheinung, auf die ich später werde zurückkommen müssen, ist die, daß bei den Stich- oder Strichimpfungen in Gelatine- oder Agarröhrchen die Entfärbung nicht immer da am stärksten war, wo die Entwicklung der Mikroorganismen am üppigsten war.

Erforderliche Zeit zur Entfärbung des Methylenblaus in den verschiedenen Nährböden.

Mikroorganismen	Bouillon	Gelatine	Agar	Kar- toffel- gelatine	Kar- toffel	Mineral- lösung	Bemerkungen
<i>Micrococcus prodigiosus</i>	14 h	17 h	32 h	60 h	—	—	Die Kulturen wurden in Brut-schrank gehalten
<i>Typhusbacillus</i>	21 h	24 h	36 h	—	—	—	
<i>Bacterium coli</i>	20 h	24 h	38 h	—	—	—	
<i>Staphylococcus pyogenes aureus</i>	48 h	60 h	62 h	—	—	—	
<i>B. subtilis</i>	—	—	—	—	—	—	
<i>Lactis niger</i>	—	—	—	—	—	—	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	28 h	nicht unters.	nicht unters.	—	—	60 h	
Mikroorganismen d. Gartenerde	nicht unters.	„	„	nicht unters.	nicht unters.	72 h	

Aus dieser Tabelle ersieht man:

1) Nicht alle verwendeten Mikroorganismen reduzieren Methylenblau, und nicht alle besitzen in gleichem Grade solches Reduktionsvermögen, welches in folgender Reihenfolge abnimmt: *Micrococcus prodigiosus*, *Typhusbacillus*, *B. coli*, *Aspergillus fumigatus*, *Staphylococcus pyogenes aureus*.

2) Die Reduktion durch ein und denselben reduzierenden Mikroorganismus ist am stärksten in Bouillon, weniger in Gelatine, noch weniger in Agar; sie bleibt aus in den übrigen künstlichen Nährböden. Nur der *Aspergillus fumigatus* und einige Mikroorganismen der Gartenerde reduzieren bei Züchtung in Minerallösung.

Modifikation des Reduktionsvermögens je nach dem Alter der Kulturen.

Die zuweilen abweichenden Resultate, die ich in dieser Hinsicht erzielte, bestimmten mich zu wiederholten Gegenproben, um meine Schlüsse

statt aus einer isolierten Erscheinung aus einer langen Reihe von Beobachtungen ziehen zu können.

In ein und dieselbe Menge Bouillon enthaltende Röhrchen impfte ich diejenigen von den verwendeten Mikroorganismen, welche bei den vorausgehenden Beobachtungen ein stärkeres Reduktionsvermögen zeigten; So hatte ich die Bequemlichkeit, eine größere Anzahl von Versuchen ausführen zu können.

Nach der Impfung wurden die Röhrchen in den Brutschrank gebracht, aus dem die einzelnen Stämme derselben nacheinander in verschiedenen Zeitabständen entnommen und mit der festgesetzten Quantität Methylenblau versetzt wurden, worauf sie bei Zimmertemperatur stehen gelassen wurden. Andere Male wurden die Impfungen an getrennten Tagen gemacht und die Beobachtung an demselben Tage.

Erforderliche Zeit zur Entfärbung des Methylenblaus durch verschieden alte Bouillonkulturen.

	2 Std.	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage	7 Tage	20 Tage alt
<i>Micrococcus prodigi-</i> <i>osus</i>	20 h	5 h	6 h	22 h	28 h	40 h	48 h	8 Tage	—
<i>B. coli</i>	21 h	7 h	10 h	10 h	24 h	—	—	—	—
<i>Typhusbacillus</i>	24 h	8 h	10 h	6 Tage	—	—	—	—	—

Eine wichtige Erscheinung muß ich hier hervorheben, nämlich, daß bei einem und demselben Mikroorganismus das Reduktionsvermögen auch in über 7 Tage alten Kulturen eintrat, wenn in diesen entweder ursprünglich die Bouillonmenge eine erheblichere war, oder gleichzeitig mit der Farblösung neue Bouillon zugesetzt wurde.

Außerdem kann man beobachten:

1) Daß in den im Moment der Impfung mit dem Farbstoff versetzten Kulturen das Reduktionsvermögen geringer ist, als in den Kulturen, wo der Farbstoff nach 1—2—5 Tagen zugesetzt wird.

2) Daß das Reduktionsvermögen sich mit dem Altern der Kultur allmählich bis zum völligen Erlöschen abschwächt.

Dies beweist, daß die Reduktion in direktem Zusammenhang mit der Entwicklungstätigkeit der Bakterien steht, daß sie aufhört oder zunimmt, wenn die Nährelemente des Nährbodens erschöpft sind, oder diese daran bereichert wird, derart, daß die Vermehrung der Bakterienzelle begünstigt oder neue reduzierende Substanz erzeugt wird.

Diese Erscheinungen bestätigen nicht nur, daß die Reduktion nicht allein in den in Entwicklung begriffenen Kulturen, sondern auch in den bereits fertig entwickelten stattfindet, sondern dienen auch als Beweis dafür, daß das Reduktionsvermögen im umgekehrten Verhältnis zu dem Alter der Kulturen steht und daß man bei dem *Micrococcus prodigiosus*, dem *Typhusbacillus*, dem *B. coli* zu einem Alter gelangt, wo dieses Reduktionsvermögen erlischt.

Ein scheinbarer Widerspruch würde sich bei den jüngeren Kulturen ergeben, d. h. bei denjenigen, bei welchen die Farblösung im Moment der Impfung zugesetzt worden ist. Bei denselben ist die Reduktion geringer, als bei den 1—2—3-tägigen Kulturen; dieser Unterschied verschwindet jedoch, wenn man von den zur Reduktion in diesen Fällen notwendigen 20 Stunden die Zeit in Abzug bringt, welche zur ausreichenden Entwicklung der Kultur erforderlich ist.

Modifikation des Reduktionsvermögens bei den verschiedenen Temperaturen.

Meine Untersuchungen in dieser Hinsicht stimmen mit denjenigen der angeführten Autoren überein, welche im allgemeinen behaupten, daß bei Zimmertemperatur die Reduktionen langsamer verlaufen, als bei 37°, und daß einige Bakterienarten über gewisse Grenzen hinaus keine Reduktion mehr erzeugen, obschon sie nicht erkenntlich in ihrer Entwicklung leiden.

Ich habe mich bereits entwickelter Bouillonkulturen (24 Stunden nach der Impfung) von *B. coli*, Typhus, *prodigiosus* bedient. Die Resultate dieser Versuche waren stets gleichlautend:

Zeit der Methylenblauentfärbung unter dem Einfluß der verschiedenen Temperaturen.

	bei 37° C	bei 17° C	bei 0° C
<i>Micrococcus prodigiosus</i>	1 h	6 h	—
<i>B. coli</i>	1 h 25'	6 h 20'	—
<i>Typhusbacillus</i>	1 h 30'	6 h 20'	—

Wirkung des Lichtes auf das Reduktionsvermögen.

Von den 24-stündigen Bouillonkulturen von *B. coli*, *Micrococcus prodigiosus*, *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Diphtheriebacillus* werden nach Zusatz zweier Tropfen Methylenblaulösung einige dem direkten Sonnenlicht, andere dem Tageslicht ausgesetzt, noch andere werden im Dunkeln gehalten.

Zeit der Methylenblauentfärbung unter dem Einfluß des Lichtes.

	Direktes Sonnenlicht	Diffuses Licht	Dunkelheit	Bemerkungen
<i>Micrococcus prodigiosus</i>	30'	4 h	3 h 30'	Wurden den dem direkten Sonnenlicht ausgesetzten Mikroorganismen, respektive nach einer 1., 2., 3. Reduktion Tropfen der Methylenblaulösung zugesetzt, so trat die Entfärbung immer ein und erfolgte stets rasch, besonders bei dem <i>Diphtheriebacillus</i> .
<i>B. coli</i>	30'	3 h	3 h	
<i>Diphtheriebacillus</i>	30'	2 h 30'	2 h 50'	
<i>Staphyl. pyog. aureus</i>	30'	4 h 50'	4 h 50'	

Diese Resultate zeigen offenbar, daß das direkte Sonnenlicht die Reduktionsprozesse der Mikroorganismen begünstigt. Dies stände scheinbar in Widerspruch mit der Tatsache der deletären Wirkung des Lichtes und ganz besonders des direkten Sonnenlichtes auf die Lebensfähigkeit der Mikroorganismen.

Ich habe deshalb eine weitere Reihe von Versuchen angestellt, bei denen ich das Sonnenlicht zuerst mehr oder weniger lange auf die Mikroorganismen einwirken ließ, und dann den Farbstoff zusetzte.

Nun trat je nach der Dauer der Aussetzung ins direkte Sonnenlicht zuerst eine Steigerung des Reduktionsvermögens gegenüber den Kontrollkulturen auf, während nachher dieses Vermögen allmählich abnahm, bis

ein vollständiger Stillstand der Reduktion erfolgte, und hierzu waren 10 Stunden der Aussetzung ins direkte Sonnenlicht ausreichend. Dieses wirkt deletär auf die Entwicklung und das Wachstum der verschiedenen Bakterienarten, aber es ist wahrscheinlich, daß es anfangs anregend auf die Bildungstätigkeit der Pflanzenzelle wirkt, in analoger Weise, wie bei der Tierzelle¹⁾, und so die reduzierenden Produkte vermehrt.

Was die dem diffusen Licht ausgesetzten Kulturen angeht, so waren mehrere Tage nötig, bis dieses Reduktionsvermögen gänzlich verschwand; in den im Dunkeln gehaltenen Kulturen erhielt sich das Reduktionsvermögen, obschon in geringem Grad, doch länger.

Variationen des Reduktionsvermögens, je nach der Reaktion des Nährbodens.

Zu den Kulturen wurden Tropfen von allmählich konzentrierteren Schwefelsäure- oder Kalilauge-lösungen hinzugesetzt. Auch mit ganz verdünnten Schwefelsäurelösungen verschwand jegliche Reduktion in den verwendeten Mikroorganismen. Ja, wenn eine Kultur, welche bereits das Methylenblau reduziert hatte, mit einigen Tropfen einer verdünnten Schwefelsäurelösung versetzt und geschüttelt wurde, so persistierte die angenommene blaue Färbung, ohne daß weitere Entfärbung eintrat.

Mit den Alkalien trat zuerst eine Steigerung in dem Reduktionsvermögen ein, auf die mit dem Wachsen der Alkaleszenz des Mediums eine Abnahme folgte, bis man vollständiges Ausbleiben der Reduktion bekam.

Variation des Reduktionsvermögens unter dem Einfluß der Anaesthetica und Hypnotica.

Auf die 24-stündigen Kulturen wurden einige Minuten lang Chloroformdämpfe einwirken gelassen; zu anderen wurden einige Tropfen Paraldehyd hinzugefügt und die Nährbouillon danach gefärbt.

Die Entfärbung trat rascher ein in den angewendeten Kontrollröhrchen, als in den der Wirkung des Paraldehyds oder Chloroforms unterzogenen. Die Entfärbung ging in umgekehrtem Sinne zu der angewandten Paraldehydmenge von statten, und man kam zu einem Punkt, wo sie nicht mehr eintrat.

Das Chloroform hatte eine geringere Wirkung auf den Reduktionsprozeß, als Paraldehyd; auch wenn die Kulturen vorher über eine halbe Stunde lang den Chloroformdämpfen ausgesetzt worden waren, bestand doch die Reduktion, wenn auch verzögert, stets fort.

Modifikation des Reduktionsvermögens, je nach der Virulenz der Mikroorganismen.

In mit Methylenblau gefärbten Agar habe ich Stichimpfungen mit *Bakterium coli* von verschiedener Virulenz gemacht.

Die Virulenz der Kulturen war eine solche, daß resp. 2, 1, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{7}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{9}$ Oesen einer 24-stündigen Agarkultur (ca. 0,002 g frischer Kultur) genühten, um ein Meerschweinchen vom durchschnittlichen Gewicht von 300 g in ca. 30 Stunden zu töten.

Einige Zeit nach Beginn der Entfärbung war diese ganz gering in dem Röhrchen, in das eine Kultur eingebracht worden war, von der

1) Di Cristina e Carapelle, Lavori dell'Ist. d'Igiene della R. Univ. di Palermo. 1902—1903.

2 Oesen nötig waren, um ein Meerschweinchen zu töten, fast gleich Null in demjenigen, in dem die Impfung die Virulenz 1 Oese hatte, während sie höchst evident war in den Röhrchen, deren Kultur eine stärkere Virulenz besaß.

Die Entfärbung begann fast stets an den peripheren Teilen des Reagensgläschens, und war hier eine vollständige, während in Zentrum des Agars sich ein fast vollgefärbter Zylinder befand. Nur in dem Röhrchen, in dem sich die Impfung mit stärkerer Virulenz befand, war der Reduktionsprozeß gleichmäßiger, da die Entfärbung, von dem Boden des Röhrchens ausgehend, bis zur Hälfte gelangt ist, ohne daß sich ein gefärbter zentraler Teil gefunden hätte.

Mit dem Fortschreiten des Reduktionsprozesses bestanden nicht mehr jene wahrnehmbaren Unterschiede, welche ich oben erwähnt habe; die vollständige Reduktion trat in allen Röhrchen nahezu zur gleichen Zeit ein.

Weiterhin untersuchte ich noch Typhus-, *Staphylococcus aureus*- und *Prodigosus*-Kulturen (letzterer durch kontinuierliche Uebergänge in frisches Serum virulent gemacht) mit einer Virulenz von 1, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{5}$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur.

Die Reduktion endigte in sämtlichen Fällen fast gleichzeitig in der gleichen Weise, indem sie stets zuerst in den mit virulenteren Kulturen geimpften Reagensgläsern begann.

Aus dem Versuch ersieht man, daß, mit Ausnahme der ersten Momente, in denen man nur mit den virulenteren Bacillen Entfärbung hat, der Reduktionsprozeß sich dann bei den verschiedenen virulenten Bakterien in derselben Weise nach Qualität und Zeit vollzieht.

Reduktion durch die Stoffwechselprodukte der Mikroorganismen.

Anstatt die sterilen Stoffwechselprodukte durch Abtötung der Keime der Kulturen durch Kochen zu erzielen, habe ich, um sie der Beeinflussung durch die hohe Temperatur zu entziehen, sie durch Filtrieren der Bouillonkultur durch den Chamberland-Filter erzielen wollen, wie es Smith machte. Alle Reduktionsversuche mit den sterilen Stoffwechselprodukten des Typhusbacillus, Diphtheriebacillus, *B. coli*, *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Micrococcus prodigosus* und einer Varietät des *Proteus* hatten negativen Ausgang. Wenn jedoch in diesem Fall eine positive Erscheinung einen großen Wert haben konnte, indem sie die Wirkung der Stoffwechselprodukte auf den Reduktionsprozeß bewiesen hätte, so läßt sich das Gleiche nicht von der negativen Erscheinung sagen. In der Tat ist es nicht unmöglich, daß die reduzierenden Substanzen entweder gasförmiger Natur sind und sich während des Filtrierens verflüchtigen, oxydieren oder durch das Filter zurückgehalten werden.

Ueber die Möglichkeit der beiden ersten Hypothesen besitzen wir eine Erscheinung, welche einen gewissen Wert haben kann, daß nämlich, wie wir oben mitgeteilt haben, mit zunehmenden Alter der Kulturen das Reduktionsvermögen abnimmt, und daß solche Verminderungen auch bei sehr kurzen Altersgrenzen eintreten. Diese Erscheinung läßt sich zwar durch die Annahme erklären, daß in den Mikroorganismen mit dem Alter eine geringere Reproduktionstätigkeit eintrete, läßt sich aber ebenfalls darauf zurückführen, daß die Mikroorganismen in dem Nährboden keine Substanzen mehr finden, welche geeignet wären, sie eine neue Menge reduzierender Substanzen hervorbringen zu lassen, um die ersten, bereits oxydierten oder ausgeschiedenen zu ersetzen.

Zur Lösung dieser Frage habe ich mich außerdem anderer Mittel bedient: Ich habe Milzbrand-, Typhus-, *Prodigiosus*-Kulturen bereitet und sie nach 24 Stunden zentrifugiert (1 Stunde lang mit elektrischer Zentrifuge, 5000 Umdrehungen in der Minute); die klare Bouillon dekantierte ich aseptisch in sterile Reagensgläschen, impfte mit einem Tropfen der gewöhnlichen sterilen Methylenblaulösung, und brachte sie in den Brutschrank bei 37°. Jene Reagensgläser, bei denen die Zentrifugation hinreichend gewesen war, um alle Bakterien zu eliminieren, zeigten keine Spur von Reduktion.

Der Versuch besagt uns nichts, bloß läßt sich daraus schließen, daß, wenn wirklich die reduzierende Substanz der Ausdruck des Bakterienstoffwechsels ist, dieselbe nicht beständig ist, derart, daß sie widerstehen und in der Bouillon nach Ausscheidung der Bakterien aufgefunden werden könnte.

Ich habe den Versuch dann in anderer Weise modifiziert: Ich bereitete Celluloidinröhrchen von verschiedenem Kaliber und verfuhr folgendermaßen:

1. Reihe — 6 Celluloidinröhrchen füllte ich mit durch Methylenblau gefärbtem Agar und mischte sie mit einer großen Menge farblosen Agars, den ich in dicken Reagensgläsern klarinettsschnabelförmig zum Erstarren brachte. Das Röhrchen mit gefärbtem Agar befindet sich auf dem Boden, darüber besteht eine dünne Schicht klaren Agars mit breiter Oberfläche, die ich mit reduzierenden Bacillen, *B. prodigiosus*, *B. coli*, *Staphylococcus aureus* impfte.

Nach 3 Tagen bemerkte ich eine ganz leichte Abnahme der blauen Farbe, die deshalb in Grün übergeht.

2. Reihe — 6 mit Agar gefüllte Celluloidinröhrchen wurden in dicke, mit Methylenblau gefärbte, sterile Bouillon enthaltende Reagensgläser gebracht; in den Agar wurden durch Einstich die oben erwähnten Kulturen eingepflanzt. Nach 2 Tagen hatte das Agarröhrchen fast die ganze Farbe der umgebenden Bouillon absorbiert und jene Spur, die darin zurückgeblieben war, war reduziert worden; durch Schütteln des Reagensglases an der Luft konnte sie nachgewiesen werden.

3. Reihe — 6 mit Methylenblauagar gefüllte Celluloidinröhrchen wurden in dicke Reagensgläser gebracht, die mit den oben erwähnten drei Arten geimpfte Bouillon enthielten. Nach 2 Tagen beobachtete man eine leichte Abnahme der blauen Farbe, welche in Grün überging.

Aus diesen Versuchen ersieht man, daß, während man bei den Reagensgläsern der 1. und 3. Reihe behaupten kann, daß die eingetretene geringe Reduktion den Stoffwechselprodukten der Mikroorganismen zuzuschreiben ist, zumal das Innere des Röhrchens durchaus steril war, man bei den Reagensgläsern der zweiten Reihe zu keinerlei Behauptung gelangen kann, da einzuwerfen wäre, daß das in der sterilen Bouillon vorhandene Leukoprodukt eben die von der Bakterienzelle ausgearbeitete und ausgeschiedene Substanz sei.

Diese nämlichen Versuche habe ich mit Natriumselenit wiederholt, wobei ich, was Dosis und Zubereitung des Nährbodens angeht, die gleichen Bedingungen wie Klett einhielt. Das Selenisalz jedoch diffundiert leicht durch das Celluloidin und ist deshalb für diese Art von Untersuchungen nicht geeignet.

Bloß auf folgende Weise habe ich operieren können: 5 ccm Selenitagar wurden in dicken Reagensgläsern klarinettsschnabelförmig zum Erstarren gebracht und dann in den Brutschrank gestellt, bis jene Spur Kondensierungswassers, welches sich am Boden des Reagensglases befand, vollkommen verdunstet war. Darauf goß ich auf diese feste Schicht 5-proz. Agar, welchen ich klarinettsschnabelförmig zum Erstarren brachte, derart, daß ich eine ungefähr $\frac{1}{2}$ cm hohe Schicht erhielt. Ich achtete darauf, den Agar möglichst nahe seinem Erstarrungspunkt zu gießen,

derart, daß ich in kurzer Zeit einen, in zwei Schichten getrennten, soliden Nährboden erzielte, die untere, weniger dichte, mit Selenit, die obere dichtere, frei vom Selenisalz. Auf diese Weise waren die Diffundierungserscheinungen nicht absolut verhindert, aber wenigstens doch sehr erschwert.

In die Reagensgläser machte ich eine Einsaat mit *B. coli*. Nach 2 Tagen bemerkte man am Boden der Reagensgläser Spuren von reduziertem Selen, während an der Oberfläche des Agars sich schwächliche, kaum sichtbare, aber an dem Ende des Klarinettenschnabels, wo die Schicht weniger dick und daher die Diffundierung leichter war, deutlich rote Kolonien entwickelten; in dem unteren Teil der Reagensgläser war mit bloßem Auge keinerlei Entwicklung wahrzunehmen.

Am 3., 4., 5. Tag war die Kulturpatina durch reduziertes Selen deutlich rot gefärbt, und am Boden des Reagensglases fanden sich, stark vergrößert, jene bereits nach 2 Tagen wahrgenommenen Zonen von reduziertem Selen.

Wenn ich zu einem Schlusse kommen sollte, so mußte ich sagen, daß das Selen langsam durch die Agarschicht diffundiert, anfangs aber die Reduktion eine Fernerscheinung ist, welche als die Wirkung besonderer Stoffwechselprodukte und nicht des Bakterienprotoplasmas aufgefaßt werden kann. Jedoch ist die in diesen letzten Versuchsreihen beobachtete Reduktion keine vollständige für das Methylenblau, nicht sehr ausgedehnt für das Selenit, was anzeigt, daß es nicht nur die (extracellulären) Stoffwechselprodukte sind, welche dieser Erscheinung präsidieren, sondern sicher auch die Bakterientätigkeit dabei mitspielen muß. Die auseinandergehenden Anschauungen der oben erwähnten Autoren sind daher dahin zu versöhnen, daß die Bakterienreduktion als eine komplexe Erscheinung zu betrachten ist, bei der es jedoch schwierig ist, die den von den Mikroorganismen ausgearbeiteten extracellulären, reduzierenden Produkten und die den intracellulären Produkten derselben zukommende Rolle abzugrenzen.

Aus dem Gesagten läßt sich schließen:

- 1) daß das Reduktionsvermögen mit den verschiedenen Mikroorganismen variiert;
 - 2) daß die Temperatur von 37° den Reduktionsprozeß beschleunigt, während die Zimmertemperatur sie verlangsamt; bei 0° hört die Reduktion auf;
 - 3) daß das Reduktionsvermögen rascher ist in den jungen Kulturen;
 - 4) daß eine Steigerung der Alkaleszenz oder Acidität des Nährbodens eine Verminderung und sogar das Verschwinden des Reduktionsvermögens mit sich bringt;
 - 5) daß die Einwirkung der Hypnotica das Reduktionsvermögen herabsetzt;
 - 6) daß aller Wahrscheinlichkeit nach das Reduktionsvermögen zum Teil auch auf die Stoffwechselprodukte zurückzuführen ist.
-

Nachdruck verboten.

Die Paratyphuserkrankungen an Bord S. M. S. „Blitz“.

Von Marine-Generaloberarzt Prof. Dr. **Reinhold Ruge**
und Marine-Stabarzt Dr. **Rogge**.

In der Zeit vom 7.—9. August 1907 erkrankten an Bord S. M. S. „Blitz“ 2 Offiziere (darunter der Schiffsarzt) und 9 Mann der Besatzung unter den Erscheinungen einer akuten Vergiftung. Am nächstliegenden war den Gedanken einer Vergiftung durch verdorbene Eßwaren. Dieser Verdacht war um so mehr begründet, als außer den beiden Mitgliedern der Offiziersmesse nur solche Leute der Besatzung erkrankten, die als Burschen, Stewards und Köche Gelegenheit gehabt hatten, von den in der Offiziersmesse während der den Erkrankungen vorhergegangenen Tagen verabreichten Speisen zu essen. Die Leute gaben dies auch alle zu. Es konnte jedoch trotz eingehendster Nachforschungen kein Genußmittel als das einzig und allein zu beschuldigende festgestellt werden.

Das Krankheitsbild war im großen und ganzen ein völlig gleiches: Plötzliches Einsetzen — ohne besondere Vorboten — mit Erbrechen und mehr oder weniger heftigem Durchfall, allgemeiner Mattigkeit und Abgeschlagenheit, krampfartigen Schmerzen im Unterleib — ohne besondere Lokalisation — und Kopfschmerzen. Bei der Aufnahme ins Lazarett machten fast alle einen schwerkranken Eindruck. Teilnahmlloser Gesichtsausdruck, blasse Gesichtsfarbe. Temperatur mit wenigen Ausnahmen ziemlich stark erhöht (39—39,5 ° C), Puls entsprechend beschleunigt, regelmäßig, voll. Keine Hautausschläge oder Roseolen. In der Hälfte der Fälle waren die Bindehäute leicht entzündlich gerötet, die Lippen trocken. Die Zunge war meist grauweiß belegt, feucht. Bis auf 2 Fälle zeigten alle auf dem — bei einigen bei Berührung leicht blutenden — Zahnfleisch einen weißlichen, mit geringer Mühe fortwischbaren Belag. An Herz und Lungen nichts Besonderes. Der Unterleib war mehr oder weniger stark aufgetrieben und in den meisten Fällen ziemlich erheblich druckempfindlich, besonders im Verlaufe des Dickdarms. Die Milz war nur bei einem Kranken zu fühlen. Die Stühle waren breiig bis wässrig und zeigten meist reichliche Schleim- und in einigen Fällen auch Blutbeimischung. In 4 Fällen bestand eine leichte akute Nierenentzündung.

Am 2. bzw. 3. Behandlungstage waren sämtliche Kranke wieder fieberfrei. Nach der Entfieberung bestand bei allen längere Zeit deutliche Pulsverlangsamung und subnormale Eigenwärme. Bei den meisten war in der ersten Zeit nach der Entfieberung die Tagesmenge des Urins leicht vermehrt. Das Erbrechen, meist nur Anfangerscheinung, ließ bei allen bald nach und hielt im längsten Falle 3 Tage an. Die Darmentleerungen, bei einzelnen im Beginn bis zu 10 und mehr am Tage, zeigten spätestens nach 8 Tagen wieder feste Beschaffenheit und, abgesehen von bei einzelnen auch noch später zeitweise beobachteter geringfügiger Schleimauflagerung, für das bloße Auge regelrechtes Aussehen. Das subjektive Befinden besserte sich ebenfalls auffallend rasch, und nach Ablauf etwa einer Woche waren sämtliche Kranke beschwerdefrei. Außer der schon erwähnten wurde keine Milzschwellung beobachtet. Auch Roseolen traten während des Verlaufes in keinem Falle auf. Die Nierenreizung hielt in einem Falle 7 Tage an, bei den übrigen war sie

spätestens am 4. Tage verschwunden. Die Rekonvaleszenz verlief bei allen ungestört.

Die Erkrankungen waren sämtlich wohl als Abortivfälle zu bezeichnen. Ob dieses der bald nach der Ansteckung eingeleiteten Behandlung oder einer geringen Giftigkeit der Ansteckungskeime zu verdanken war, oder ob schließlich die gerade anfänglichen stürmischen Erscheinungen auf eine Einwirkung von schon außerhalb des menschlichen Körpers reichlich gebildeten Toxinen zurückzuführen war, muß dahingestellt bleiben. Wahrscheinlich ist, daß alle drei Momente eine Rolle bei dem immerhin eigenartigen Verlauf gespielt haben.

Als Krankheitserreger konnte in 4 Fällen das *Bact. Paratyphi B* ermittelt werden. Aus äußeren Gründen (Umbau des Laboratoriums) konnte die bakteriologische Untersuchung erst am 10. Behandlungstage einsetzen, und dieser Umstand mag die Ursache gewesen sein, daß nur in einer so kleinen Anzahl von Fällen der Nachweis des Krankheitserregers im Stuhl gelang und im Blute der Kranken *Paratyphusbacillen* überhaupt nicht aufgefunden werden konnte. Auch im Urin gelang der Nachweis nicht ein einziges Mal. Auffallend war in allen Fällen, auch in den negativen, die außerordentliche *Coli*-Armut der Stühle. Die auf *Drigalski*-Agar gewachsenen Kolonien waren fast alle blau, erwiesen sich aber meistens als *Bacillus faecalis* alcalig. Da, wo der *Paratyphusbacillus* im Stuhle erschien, war er fast in Reinkultur vorhanden. Einmal hielten sich die *Paratyphusbacillen* 4, in einem zweiten Falle 5 Wochen lang in den Darmentleerungen, die schon längst wieder normales Aussehen angenommen hatten.

Bemerkenswert war das geringe Agglutinationsvermögen des Krankenserums (4. Krankheitswoche). Es ging nicht über 1:50, während Esel-Immunserum (in liebenswürdigster Weise vom Kgl. Institut für Infektionskrankheiten - Berlin zur Verfügung gestellt) 24-stündige Agarkulturen bis 1:1000 und selbst da noch sehr stark agglutinierte.

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten der Choleravibrionen dem menschlichen Mageninhalt gegenüber.

[Aus der bakteriologischen Station zu Saratow (Leiter:
A. A. Winogradow).]

Von Dr. Nicolai Stern, Saratow.

Die Infektion des Menschen mit Choleravibrionen geschieht, wie allgemein angenommen wird, durch den Verdauungstraktus. In allen Hand- und Lehrbüchern finden wir die Angabe, daß im menschlichen Magen unter der Einwirkung der Salzsäure die Choleravibrionen sehr rasch zugrunde gehen. So sagt Günther¹⁾: „Beim Menschen geschieht die natürliche Infektion ohne Zweifel vom Darminkanal aus. Es ist dazu notwendig, daß die Vibrionen, die mit der Nahrung, mit Trinkwasser etc. eingeführt werden, den Magen in entwicklungsfähigem Zustande passieren. Ist der Magen nur mäßig gefüllt, sein Inhalt sauer, so dürfen die Cholerabacillen die Barriere des Magens wohl selten überschreiten können.“

1) Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. 5. Aufl. 1898. p. 461.

Diese Ansicht wird größtenteils dadurch begründet, daß in Mineralsäurelösungen, sogar in Verdünnung von 1 : 10 000 (Salz- und Schwefelsäure), die Choleravibrionen sehr rasch abgetötet werden [Kolle¹⁾, Kitasato²⁾ u. A.].

Da nun auf der Höhe der Verdauung der menschliche Mageninhalt eine Konzentration von über 0,2 Proz. HCl erreicht, so nehmen alle Autoren a priori an, daß die Choleravibrionen im gesunden Magen rasch ihre Lebensfähigkeit einbüßen.

Wenn wir nun die Fähigkeit der Salzsäure, sogar in Lösungen von 1 : 10 000 die Choleravibrionen abzutöten, ohne weiteres auf die Verhältnisse im menschlichen Magen übertragen, so muß es wunder nehmen, daß bei ausgebreiteten Choleraepidemien doch noch eine so große Zahl von Erkrankungen vorkommt.

Um diesen Widerspruch aufzuklären, ist es durchaus nötig, das Verhalten der Choleravibrionen dem menschlichen Mageninhalt während der Verdauung gegenüber zu studieren.

Die ersten diesbezüglichen Arbeiten sind von Kabrhel³⁾ im Jahre 1890 ausgeführt worden.

Kabrhel untersuchte unter anderem das Verhalten der Choleravibrionen dem künstlichen Magensaft gegenüber, und kam zu folgenden Schlüssen:

1) In reinem Wasser mit einem Gehalt von 0,058 Proz. Salzsäure werden Cholerabakterien in 0,05 Stunden (3 Minuten) abgetötet.

2) In Wasser und Glyzerinpepsin genügt schon ein Gehalt von 0,019 Proz. Salzsäure, um in gleicher Zeit Cholerabakterien abzutöten.

3) Bei einer Flüssigkeit, zu deren Bereitung Blutserum benutzt wurde, die also einen Gehalt an Eiweiß hat, ist ein fast 10mal so starker Gehalt an HCl, nämlich 0,097 Proz. nötig, um erst in 1 Stunde Cholerabakterien zum Absterben zu bringen.

4) Eine Flüssigkeit, welche man nach Einwirkung der künstlichen Verdauungsflüssigkeit auf Fibrin erhalten hat, bedarf sogar einer Azidität von 0,217 Proz. HCl, um in 2 Stunden den *Vibrio cholerae* abzutöten.

Wie aus diesen Versuchen erhellt, bleiben im künstlichen Magensaft, wie wir ihn zu Verdauungsversuchen benutzten, bei einer Azidität von 0,217 Proz., also einer Azidität, wie sie den natürlichen Verhältnissen entspricht, Choleravibrionen im Verlaufe von 2 Stunden noch virulent.

Schon diese Versuche mit künstlichem Magensaft stehen mit der allgemeinen Ansicht über die bakterizide Wirkung des menschlichen Mageninhalt Choleravibrionen gegenüber in starkem Widerspruch.

Weitere Versuche über die uns interessierende Frage stellte Schultz-Schultzenstein⁴⁾ im hygienischen Institute der Universität Greifswald (Prof. Loeffler) an. Schultz-Schultzenstein hat die Kabrhelschen Versuche, soweit sie Choleravibrionen betreffen, nachgeprüft und gefunden, „daß man, wenn man sie genau, wie angegeben, nachmacht, die gleichen Resultate erzielt“ (p. 789).

1) Kolle, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. III. p. 23.

2) Kitasato, Ueber das Verhalten der Typhus- und Cholerabacillen zu Säure oder alkalihaltigen Nährböden. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. III. 1888.)

3) Kabrhel, Ueber Einwirkung künstlichen Magensaftes auf pathogene Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. X. 1890.)

4) Schultz-Schultzenstein, Zur Kenntnis der Einwirkung des menschlichen Magensekretes auf Choleravibrionen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. p. 785.)

Um nun seine Versuche den natürlichen Verhältnissen im menschlichen Magen anzupassen, bat Schultz-Schultzenstein 4 Kollegen, je 600 ccm Wasser zu trinken, nachdem sie vorher 6—8 Stunden nichts genossen hatten. Nach 12—15 Minuten hebte er dann den Mageninhalt aus. Mit diesem ausgeheberten Wasser stellte Schultz-Schultzenstein nun seine weiteren Versuche an. Die Menge des ausgeheberten Wassers betrug ca. 400 ccm, der Säuregrad schwankte zwischen 0,0134 und 0,035 Proz. Die Versuchsanordnung war bei allen Versuchen folgende:

„Es wurden Erlenmeyersche Kolben mit je 25 ccm ausgeheberten Wassers gefüllt und dazu 1 ccm einer jedesmal tags zuvor frisch angelegten Cholerabouillonkultur hinzugefügt. Das Material war einer im Greifswalder hygienischen Institute vorhandenen „Berliner Cholera“ bezeichneten Agar-Agarkultur entnommen. Die so zugesetzten Choleravibrionen setzte ich nun der Einwirkung des ausgeheberten Wassers je 5, 15, 30 und 90 Minuten lang aus, dann wurden 2½ ccm einer 10-proz. Peptonkochsalzlösung zugesetzt und mit kohlen saurem Natron neutralisiert. Die Kolben kamen dann sofort in einen Brutschrank bei 36,5° C. Zuerst wurde nach 9—10 Stunden, dann nach 24—26 Stunden und dann nach 2 Tagen untersucht und zwar im hängenden Tropfen, im gefärbten Präparat und durch Anlegung einer Agar-Agarkultur; von letzterer wurden dann nach 24 Stunden irgendwie choleraverdächtige Kolonien durch Choleraserum auf ihre Agglutinationsfähigkeit geprüft.“

Die Resultate seiner Untersuchungen teilt Schultz-Schultzenstein in folgender Tabelle mit:

Versuch	Säuregrad	Dauer der Einwirkung				Kontrollversuch
		5 Min.	15 Min.	30 Min.	90 Min.	
No. 1	0,0134 Proz.	+	+	+	+	+
„ 2	0,035 „	+	—	—	—	+
„ 3	0,032 „	+	+	—	—	+
„ 4	0,03 „	+	—	—	—	+
„ 5	0,0145 „	+	+	+	+	+

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, fand Schultz-Schultzenstein im Magenwasser bei einer Azidität von 0,0134—0,0145 Proz. noch nach 90 Minuten völlig virulente Cholerabakterien; bei einer Azidität von 0,035 Proz. dagegen gehen die Cholerabakterien bereits nach 15 Minuten zugrunde. Um nun festzustellen, ob die Salzsäure des Magens allein genügt, die Vibrionen abzutöten, stellte Schultz-Schultzenstein Versuche mit 0,03-proz. salzsäurehaltigem Wasser an. In 25 ccm einer 0,03-proz. Lösung von HCl wurden jedesmal in gleicher Weise wie beim ausgeheberten Magenwasser aus einer frischen Cholerabouillonkultur 1 ccm eingebracht und nach 5, 15, 30 und 60 Minuten davon 1 ccm in 24 ccm einer 1-proz. Peptonkochsalzlösung übertragen. Die Kolben mit Peptonlösung zeigten sämtlich nach 24 Stunden reichlich Wachstum von Choleravibrionen.

Wie wir aus diesen Versuchen ersehen, bleiben die Choleravibrionen in 0,03-proz. salzsäurehaltigen Wasser noch nach 60 Minuten virulent, während sie im Magenwasser bei gleicher Azidität schon nach 15 Minuten zugrunde gehen.

Dieser scheinbare Widerspruch findet nach Schultz-Schultzenstein seine Erklärung darin, daß im Magenwasser nach der Ausheberung außer Salzsäure auch noch Pepsin vorhanden ist. Pepsin wirkt aber,

wie schon die Untersuchungen von Kabrhel (s. o.) gezeigt haben, hemmend auf das Wachstum der Choleravibrionen ein. Schultz-Schultzenstein hat nun in seinen Versuchen nachgewiesen, daß Pepsin (sauer) in 0,1-proz. Lösung „entwicklungshemmend und schädigend auf Choleravibrionen wirkt, sie aber nicht sicher abtötet“. In gleicher Lösung des Gröblerschen Pepsinum purissimum (neutral) konnten nach Schultz-Schultzenstein die Choleravibrionen ungehindert wachsen.

Ich habe an einer ganzen Reihe von Versuchen die obigen Angaben Schultz-Schultzensteins nachgeprüft und fast die gleichen Resultate erhalten.

Am Schlusse seiner interessanten Arbeit kommt Schultz-Schultzenstein zu folgendem Resumé:

1) Zur Abtötung der Choleravibrionen ist am wenigsten Säure nötig, 0,05 Proz. bei 6 Minuten Einwirkung, wenn sie sich in reinem Wasser befinden.

2) Pepsin mit Spuren von Säure in choleravibrionenhaltigem Wasser wirkt entwicklungshemmend auf Choleravibrionen und veranlaßt Granulabildung.

3) Pepsin und Salzsäure zusammen töten die Choleravibrionen schon bei einem Gehalt von 0,019 Proz. ab.

Die Anordnung der Versuche Schultz-Schultzensteins entspricht meiner Ansicht nach durchaus nicht den Verhältnissen, welche die Choleravibrionen im menschlichen Magen während der Verdauung antreffen. Wie aus Untersuchungen an Hunden, ausgeführt von Chischin¹⁾ im Laboratorium von Prof. J. P. Pawlow, hervorgeht, bewirkt Wasser eine nur unbedeutende Magensaftsekretion, was bei der strengen Zweckmäßigkeit der Arbeit der Verdauungsdrüsen ja auch durchaus verständlich erscheint.

Bei den Versuchen von Schultz-Schultzenstein sehen wir, daß nach $\frac{1}{4}$ Stunde nach dem „Probewasser“ eine schwach saure Flüssigkeit ausgehebert wird. Schultz-Schultzenstein gibt aber nicht an, ob diese Flüssigkeiten auch Magenfermente enthalten oder nicht.

Auf Grund eigener Untersuchungen, die anderorts ausführlich veröffentlicht werden sollen, kann ich behaupten, daß beim Menschen das Trinken von Wasser durchaus nicht immer Abscheidung von Fermenten bedingt. In meinen 35 Fällen konnte ich nur in 16 den Nachweis von sehr geringen Mengen von Pepsin erbringen. Gewöhnlich wird nur etwas Salzsäure abgeschieden²⁾.

Pawlow (p. 137) gibt gleichfalls an, daß bei Hunden bei Einführung kleiner Mengen Wasser (150 ccm) in mehr als der Hälfte aller Beobachtungen kein Tropfen Magensaft abgesondert wird.

Es schien mir nun interessant, festzustellen, wie sich die Choleravibrionen zum menschlichen Mageninhalt während der Verdauung verhalten.

Zu diesem Zwecke habe ich auf der bakteriologischen Station zu

1) S. Pawlow, Arbeit der Verdauungsdrüsen. 1897. p. 136. (Russische Ausgabe.) S. auch Ketscher, Reflex auf die Magensekretion, von der Mundhöhle ausgelöst. [Diss.] St. Petersburg. 1890.

2) Die Salzsäureabscheidung in diesen Fällen muß als Ausdruck der Zweckmäßigkeit der Magendrüsensarbeit angesehen werden, da bekanntlich der Salzsäure desinfizierende Eigenschaften zugeschrieben werden.

Saratow eine ganze Reihe von Untersuchungen vorgenommen. Die Untersuchungen sind bereits im Dezember 1904 begonnen worden.

Ich halte es für eine angenehme Pflicht, Herrn A. A. Winogradow für die gütige Erlaubnis, ungehindert auf der bakteriologischen Station zu arbeiten, sowie für die zahlreichen wertvollen Anweisungen während meiner Arbeit meinen innigsten Dank auszusprechen.

Bei meinen Untersuchungen habe ich Cholerakulturen, die den örtlichen Epidemien von 1904 und 1907 entstammen, benutzt. Für die liebenswürdige Ueberlassung dieser Kulturen spreche ich den Herren Dr. P. K. Haller und Dr. J. J. Lintwarew meinen besten Dank aus.

Bevor ich an die Beschreibung der von mir gewonnenen Resultate gehe, will ich etwas ausführlicher die Methodik meiner Untersuchungen besprechen. Das Material zu meinen Versuchen erhielt ich durch Ausheberung des Mageninhaltes 1 Stunde nach einem Probefrühstück, bestehend aus 300 g Tee und 40 g Weißbrot oder 2 Stunden nach einer Probemahlzeit, bestehend aus 100 g Bouillon, 80 g Fleisch und 40 g Weißbrot. Ich war bemüht, den Mageninhalt so rein als nur möglich zu erhalten. Zu diesem Zwecke wurde der Mageninhalt in ein steriles Gefäß aufgefangen; außerdem wurde die Magensonde am Eintritt in den Flaschenhals mit Watte umwickelt, um das Eintreten von Speichel zu vermeiden.

Der so gewonnene Mageninhalt wurde teils zu chemischen, teils zu bakteriologischen Untersuchungen verwandt. Die Untersuchung des Mageninhaltes wurde sofort nach der Ausheberung vorgenommen.

Die Versuchsanordnung war folgende:

5 ccm des unfiltrierten Mageninhaltes wurden in sterile Kolben gegossen und $\frac{1}{2}$ ccm einer tags zuvor angelegten Cholerabouillonkultur hinzugesetzt. Die Kolben kamen dann sofort in einen Brutschrank bei $36,5^{\circ}\text{C}$. Nach je 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 90 und 120 Minuten wurden aus diesen Kolben 3—5 Oesen in Röhrchen mit Bouillon und Peptonwasser übertragen. Falls der Mageninhalt eine überaus hohe Azidität besaß, so wurden zu den Röhrchen mit dem Nährsubstrat 5—8 Tropfen einer sterilen Sodalösung hinzugesetzt, um die abnorme Säure zu neutralisieren. Die so beschickten Röhrchen wurden dann für 24 Stunden in den Brutschrank gebracht und dann untersucht. Falls nach 24 Stunden in den Röhrchen Wachstum von Bakterien auftrat, wurden aus diesen Röhrchen Gelatine- und Agar-Agarplatten angefertigt. Nach weiteren 24—36 Stunden wurden etwa choleraverdächtige Kolonien mikroskopisch untersucht und zur endgültigen Diagnose die Agglutinationsprobe gemacht (das Serum entstammte dem Institute für experimentelle Medizin in St. Petersburg und hatte einen Titer von 1 : 30 000).

Zur Kontrolle wurde aus jedem Mageninhalt eine Kultur in Bouillon und Gelatine angelegt, um das Vorhandensein von Bakterien im Mageninhalt nachzuweisen. Gewöhnlich erhielt ich bei einer Azidität von über 0,18 Proz. kein Wachstum von Bakterien. Bei einer niedrigeren Azidität erhielt ich in den Kontrollversuchen stets reichliches Wachstum von Bakterien. In diesen Versuchen mußte öfters, um ein eindeutiges Resultat über das Vorhandensein virulenter Choleravibrien zu bekommen, das Anreicherungsverfahren angewandt werden.

In jedem Mageninhalt wurden die Gesamtazidität (mit $\frac{1}{10}$ NaOH), der Pepsingehalt (nach Mett), Labferment und Peptone bestimmt. Außerdem findet sich bei jeder Untersuchung eine Angabe über den Schleimgehalt.

Im ganzen habe ich den Mageninhalt von 34 Personen untersucht. Ein Teil meiner Versuchspersonen war magengesund, der größte Teil jedoch litt an verschiedenartigen Magenkrankungen. Im ganzen lassen sich die untersuchten Fälle vom klinischen Standpunkt aus in folgende 8 Gruppen einteilen:

1. Gruppe.	Normale Magenfunktion	(5 Fälle)
2.	" Achylia gastrica	(4 ")
3.	" Gastritis chronica subacida	(6 ")
4.	" Gastritis chronica (acida) alcoholica	(4 ")
5.	" Atonia ventriculi	(4 ")
6.	" Stenosis pylori (benigna)	(2 ")
7.	" Carcinoma ventriculi	(3 ")
8.	" Hyperaciditas neurasth.	(6 ")

Die Resultate, die ausführlich in der nachstehenden Tabelle eingetragen sind, waren folgende:

No. der Versuche	Namen der Kranken	Azidität	Pepsin	Lab-ferment	Peptone	Schleim-gehalt	Diagnose
1	Ph. B., 29 J.	0,2	+	+	+	0	Dyspepsia nervosa
2	A. Sch., 32 J.	0,21	+	+	+	0	"
3	B. R., 30 J.	0,24	+	+	+	0	"
4	N. G., 37 J.	0,2	+	+	+	0	normal
5	R. E., 41 J.	0,18	+	+	+	0	"
6	M. K., 26 J.	0,01	0	0	0	0	Achylia gastrica
7	A. G., 46 J.	0,016	0	0	0	0	"
8	B. M., 39 J.	0,01	0	0	0	0	"
9	Eug. P., 39 J.	0,01	0	0	0	0	"
10	L. B., 42 J.	0,08	+	+	+	viel	Gastritis chr. subac.
10a	L. B., 42 J.	0,08	+	+	+	0	"
11	N. S., 39 J.	0,088	+	+	+	viel	"
11a	N. S., 39 J.	0,088	+	+	+	0	"
12	G. St., 26 J.	0,082	+	+	+	viel	"
12a	G. St., 26 J.	0,082	+	+	+	0	"
13	S. A., 46 J.	0,09	+	+	+	viel	"
14	A. A., 46 J.	0,092	+	+	+	"	"
15	A. St., 49 J.	0,072	+	+	+	"	"
16	Fr. B., 26 J.	0,25	+	+	+	s. viel	Gastritis alc. acida
17	Max F., 37 J.	0,3	+	+	+	"	"
18	Th. E., 35 J.	0,32	+	+	+	viel	"
19	A. D., 48 J.	0,22	+	+	+	"	"
20	D. Jew., 39 J.	0,24	+	+	+	"	Atonia ventriculi
21	Marie G., 41 J.	0,25	+	+	+	"	"
22	Agr. J., 50 J.	0,2	+	+	+	"	"
23	Iwan S., 30 J.	0,2	+	+	+	"	"
24	Ferd. Sch., 34 J.	0,4	+	+	+	"	Stenosis pylori (benigna)
25	A. C. S., 43 J.	0,38	+	+	+	"	"
26	Michel S., 42 J.	0,16	Spuren	+	schwache Reaktion	"	Carcinoma ventr.
27	Anna M., 46 J.	0,14	+	+	"	"	"
28	Stephan W., 39 J.	0,16	Spuren	+	"	"	"
29	Iwan F., 22 J.	0,3	+	+	+	0	Hyperacid. et hypersecret.
30	Boris G., 19 J.	0,26	+	+	+	0	Hyperaciditas (neur.)
31	Karl R., 32 J.	0,26	+	+	+	0	"
32	Bertha K., 27 J.	0,36	+	+	+	0	"
33	Semen G., 29 J.	0,28	+	+	+	0	"
34	Georg W., 36 J.	0,28	+	+	+	0	"

Rückstand gesondert mit Choleravibrionen beschicken, so können wir im Filtrat schon nach 1 Stunde keine lebenden Choleravibrionen nachweisen, während sie im schleimigen Rückstande noch nach 2 Stunden durchaus lebensfähig sind. Es ist ja schon seit langem bekannt, daß die Choleravibrionen sich vorzugsweise in schleimigen Massen ansiedeln. Es stammt ja auch hiervon die Erfahrung, zu bakteriologischen Untersuchungen aus choleraverdächtigen Stühlen Schleimstückchen zu entnehmen. In diesen schleimigen Massen entwickeln sich die Choleravibrionen vorzüglich trotz des hohen Säuregrades des betreffenden Mageninhaltes. So treffen wir bei der alkoholischen Gastritis (No. 16—19) bei einem Säuregrad von 0,25—0,32 Proz. die Choleravibrionen in den schleimigen Massen noch nach 1 Stunde vollständig lebensfähig an, während sie sonst bei solcher Azidität bedeutend rascher zugrunde gehen.

Bei meinen Fällen von Magenatonie (No. 20—23) enthielt der Magen einen recht schleimigen Mageninhalt bei einem Säuregrad von 0,2 bis 0,25 Proz. Bei meinen Versuchen mit diesem Mageninhalt konnten noch nach 1 Stunde lebensfähige Choleravibrionen gezüchtet werden.

Wenn ich die Ergebnisse meiner Versuche mit normalem Mageninhalt und dem Inhalte von atonischen Mägen vergleiche, so sehen wir, daß bei Magenatonie die Choleravibrionen viel länger ihre Lebensfähigkeit behalten, was größtenteils vom reichlicheren Schleimgehalt herrührt.

Bei schwereren motorischen Störungen, wie wir sie bei Pylorusstenose beobachten, werden die Choleravibrionen in kurzer Zeit abgetötet (No. 24, 25), mitunter sogar schon im Verlaufe von 10 Minuten. Der starke bakterientötende Einfluß hängt hier größtenteils von der abnormen Azidität des sich stauenden Mageninhaltes ab; es ist auch nicht ausgeschlossen, daß die bei der Stauung auftretenden Bakterien (Sarcinen u. a.) vernichtend auf die Choleravibrionen einwirken [Kitasato¹⁾].

Beim Magenkrebs sterben die Choleravibrionen unter dem Einflusse der meist vorhandenen Milchsäure rasch ab (bis zu 20 Minuten, No. 26—28).

Bei der Hyperazidität des Mageninhaltes (No. 29—34), wo der Säuregrad zwischen 0,28—0,36 Proz. schwankte, wurden die Choleravibrionen in verhältnismäßig kurzer Zeit vernichtet (bis zu 15 Minuten).

Als Resultat meiner Untersuchungen ergibt sich die Tatsache, daß die Choleravibrionen beim Eintritt in den Magen dort ungehindert sich weiter entwickeln können, wobei die Anwesenheit von Salzsäure, sogar in beträchtlicher Konzentration, nicht immer hemmend auf die Lebensfähigkeit der Choleravibrionen einwirkt.

Kabrhel (l. c.) hatte schon darauf hingewiesen, daß in peptonhaltigen Flüssigkeiten bei einem Salzsäuregehalt von 0,2117 Proz. Choleravibrionen über 2 Stunden lebensfähig bleiben können. Das sind nun aber gerade Verhältnisse, wie sie die Choleravibrionen im Mageninhalt bei der Verdauung antreffen. Im Magen entstehen bekanntlich unter der Einwirkung des Pepsins (in Anwesenheit von Salzsäure) aus Eiweiß Peptone. Die Choleravibrionen können also trotz der üblichen Azidität von 0,2 Proz. den Magen passieren, ohne ihre Lebensfähigkeit einzubüßen. Sie siedeln sich dann im Dünndarm an, wo sie gewöhnlich einen für ihre Weiterentwicklung günstigen Boden antreffen. Die sich in das Duodenum ergießende Galle scheint außerdem noch einen ganz besonders

1) Kitasato, Ueber das Verhalten der Cholerabacillen zu anderen pathogenen und nicht pathogenen Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI. 1889.)

günstigen Einfluß auf die Choleravibrionen auszuüben. So sehen wir im Fall No. 31, wo der Mageninhalt reichlich Galle enthielt, daß die Choleravibrionen nach 40 Minuten virulent waren, während sie im Fall No. 30 bei gleicher Azidität schon nach 15 Minuten abgetötet waren. Desgleichen vergleiche Fall No. 19, wo bei einer Azidität von 0,22 Proz. noch nach 90 Minuten lebende Choleravibrionen nachzuweisen waren.

Andererseits haben aber Kabrhel und Schultz-Schultzenstein nachgewiesen, daß Pepsin die bakterientötende Einwirkung der Salzsäure auf Choleravibrionen erhöht. Es wäre also anzunehmen, daß im Beginn der Verdauung, bevor es noch zur Bildung von Peptonen gekommen ist, die Choleravibrionen unter dem Einflusse der Salzsäure und des Pepsins in kurzer Zeit zugrunde gehen.

Ich habe in 6 Fällen den Mageninhalt ganz im Beginn der Verdauung (10 Minuten nach einem Probefrühstück) untersucht und gefunden, daß der Mageninhalt in dieser Zeit wohl Pepsin, Labferment und Eiweiß enthält und einen Säuregrad von 0,032—0,04 Proz. besitzt; Peptone waren um diese Zeit im Magen noch nicht nachzuweisen. Der so gewonnene Mageninhalt wurde auf das Verhalten der Choleravibrionen in gleicher Weise wie oben untersucht und die Resultate sind aus folgender Tabelle ersichtlich.

Säuregrad	Peptone	Pepsin	Lab	Eiweiß	Nach wieviel Minuten waren die Choleravibrionen noch lebensfähig?											
					5	10	15	20	30	40	60	80	90	120		
1) 0,04	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
2) 0,034	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
3) 0,04	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
4) 0,036	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
5) 0,04	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	
6) 0,032	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	

Wir sehen also, daß bei einem Säuregrad von 0,032—0,04 Proz. noch nach 90 Minuten virulente Choleravibrionen im Mageninhalt trotz der Anwesenheit von Pepsin nachzuweisen sind.

Wie erklärt sich nun dieser augenscheinliche Widerspruch? Die Erklärung finden wir in den bereits mehrfach zitierten Versuchen von Kabrhel. Er hatte nämlich nachgewiesen, daß bei Anwesenheit von Eiweiß zur Abtötung der Choleravibrionen eine Säurekonzentration von mindestens 0,097 Proz. nötig ist.

Um den Einfluß des Eiweißes auf die Virulenz der Choleravibrionen im salzsäurehaltigen Mageninhalt nachzuweisen, habe ich in den 6 angeführten Proben von Mageninhalt durch Erhitzen das Eiweiß gefällt und filtriert; in den filtrierten, von Eiweiß befreiten Mageninhalt wurden nun 10 Tropfen einer frischen Bouillonkultur von Choleravibrionen gebracht und nach der oben angeführten Methode weiter untersucht. Ich bin dabei zu Resultaten gekommen, die mit denen von Schultz-Schultzenstein völlig übereinstimmen. Ich fand, daß bei einem Säuregrad von über 0,03 Proz., aber bei Abwesenheit von Eiweiß, Choleravibrionen bereits nach 15—20 Minuten zugrunde gehen.

Wir sehen also, daß auch im Beginn der Verdauung die Choleravibrionen im Magen keinen sehr ungünstigen Boden zu ihrer Weiterentwicklung finden.

Schlußfolgerungen.

1) Im normalen Mageninhalt bei einem Säuregrad von ungefähr 0,2 Proz. HCl bleiben Choleravibrien im Verlaufe von 40—60 Minuten noch virulent. Wenn wir in Betracht ziehen, daß die flüssigen Teile des Speisebreies den Magen ziemlich früh verlassen, so müssen wir zugeben, daß der normale Magen keine so sichere „Barriere“ für die Choleravibrien bildet, wie es bisher als sicher angenommen wurde.

2) Ein großer Schleimgehalt übt einen günstigen Einfluß auf die Entwicklungsfähigkeit der Choleravibrien aus. Daher sind, wie auch früher angenommen wurde, Personen mit Magenkatarrh besonders einer Infektion ausgesetzt.

3) In der günstigsten Lage befinden sich Personen mit Hyperazidität. Wenn wir aber bedenken, daß die Höhe der Azidität erst nach 1—1½ Stunden nach Eintritt der Speisen in den Magen erreicht wird, so ist es nicht von der Hand zu weisen, daß in diesen Fällen die Choleravibrien den Magen passieren können, noch bevor eine abnorme Azidität auftritt.

4) Wasser, nüchtern getrunken, bewirkt in den meisten Fällen nur eine Absonderung von etwas Salzsäure. Fermente werden nur sehr spärlich oder gar nicht abgesondert. Daher gehen Choleravibrien, die mit Wasser nüchtern in den Magen eingebracht werden, sogar bei einem Säuregehalt von 0,04 Proz. rasch zugrunde.

5) Pepsin verstärkt die Salzsäurewirkung auf Choleravibrien.

6) Peptone dagegen setzen die bakterizide Wirkung der Salzsäure herab. So werden Choleravibrien durch Salzsäurelösungen von 0,28 bis 0,3 Proz. bei Anwesenheit von Peptonen erst nach 15—20 Minuten abgetötet.

7) Galle bewirkt wahrscheinlich auch eine Herabsetzung der bakteriziden Wirkung der Salzsäure.

8) Eiweißlösungen setzen gleichfalls die bakterientötenden Eigenschaften der Salzsäure herab, so daß bei Anwesenheit von Eiweiß Choleravibrien bei einem Salzsäuregehalt von ca. 0,1 Proz. lange Zeit virulent bleiben.

Nachdruck verboten.

Eine Silberimprägnationsmethode zur Unterscheidung von Lepra- und Tuberkelbacillen.

Von Dr. J. Yamamoto,

Assistenzarzt der Kaiserl. dermatolog. Klinik zu Kyoto, Japan,
gegenwärtig am hygienischen Institute der Universität Straßburg.

Mit 1 Tafel.

Eine von mir früher mitgeteilte Methode¹⁾, die *Spirochaete pallida* durch Silberimprägnation in Ausstrichen darzustellen, ist auch auf Präparate von Lepra- und Tuberkelbacillen anwendbar, und läßt dabei eine merkwürdige Erscheinung zutage treten, die es ermöglicht,

1) In der japanischen medizinischen Zeitschrift Tschugai-iji-schinpo (Tokyo, Japan), 20. Juli 1907.

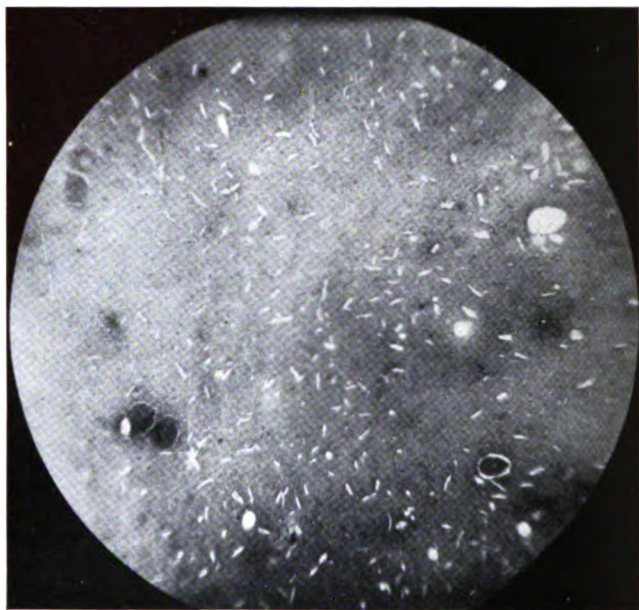


Fig. 1.

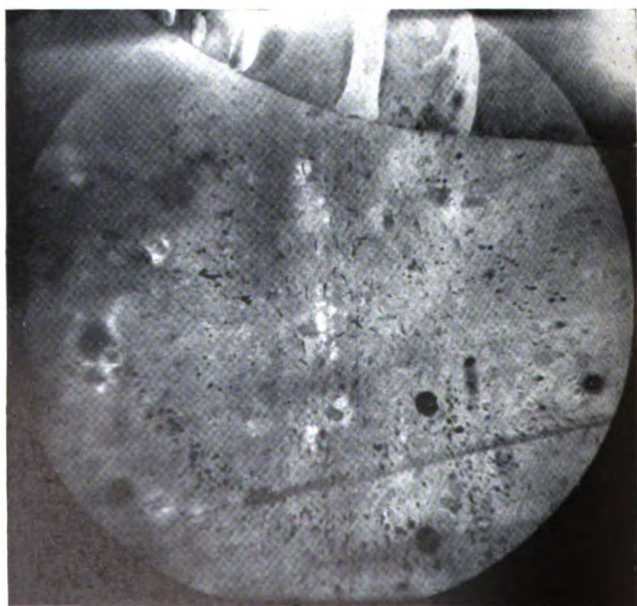


Fig. 2.

sofort eine bisher nicht bekannte Differenzierung zwischen diesen beiden Bakterienarten zu machen. Man beobachtet nämlich hierbei, daß die Leprabacillen, da sie durch Silbermittel nicht imprägniert werden, negativ auf dem goldbraun gefärbten Gesichtsfelde sich verhalten, d. h. farblos erscheinen (Fig. 1), während die Tuberkelbacillen sich umgekehrt schwarz, positiv gefärbt zeigen (Fig. 2).

Die Färbung wird folgendermaßen ausgeführt:

1) Anfertigung des Ausstrichpräparates der Leprabacillen aus Lepraknoten; man vermeidet dabei möglichst eine Beimischung von Blut, was man leicht dadurch erreichen kann, daß man eine lokale Anämie durch Fixieren des Lepraknotens zwischen dem Daumen und Zeigefinger hervorruft und mit einem scharfen Messer aus den tieferen Schichten der Haut den bacillenhaltigen Lympfsaft ausschabt. Vorher muß natürlich die Hautoberfläche desinfiziert werden.

2) Anfertigung des Tuberkelbacillenpräparates aus Sputum oder Reinkultur; man darf jedoch die Tuberkelbacillen nicht mit Wasser auf das Deckglas ausstreichen, sondern benutzt zu diesem Zwecke Hühner-eiweiß, und zwar bringt man zuerst eine Oese des flüssigen Eiweißes in dünner Schicht auf das Deckglas und breitet dann die Tuberkelbacillen darin aus.

3) Die so hergestellten Präparate werden an der Luft getrocknet und darauf in der Flamme vorsichtig fixiert.

4) 10 Minuten langes Erwärmen in 5-proz. Silbernitratlösung bei 55–60° C.

5) Alsdann werden die Präparate 5 Minuten lang in die Reduzierungslösung gebracht.

(Rp. Acid. pyrogallici 2,0, Acid. tannici 1,0, Aq. destill. ad 100,0.)

6) Die Deckgläschen sind jetzt mit einem schwarzen Niederschlage bedeckt. Man entfernt diesen auf das Sorgfältigste, indem man mit einem zusammengefalteten, mit Wasser erweichten Stück Filtrierpapier mehrmals darüberfährt.

7) Trocknen, mit Kanadabalsam einschließen und mit Oelimmersion untersuchen.

Die so hergestellten Präparate weisen im ganzen einen goldbraunen Glanz auf. Die Tuberkelbacillen sind tiefschwarz tingiert, während die Leprabacillen durchsichtig und hell erscheinen. Die hellen Leprabacillen können nach der Silberimprägnation mit dem Ziehlschen Karbol-fuchsin unter Säurealkoholbehandlung nachgefärbt werden.

Nachdruck verboten.

Das Verhalten der Tuberkelbacillen in „indifferenten“ Flüssigkeiten.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Universitäts-Institute in Wien (Vorstand: Prof. Weichselbaum) und aus der II. medizinischen Klinik (Vorstand: Hofrat v. Neusser).]

Von

Privatdozent Dr. **Julius Bartel** und Dr. **Wilhelm Neumann**,
Assistenten des Institutes. Aspiranten der II. med. Klinik.

(Schluß.)

Wir sahen also, daß Tuberkelbacillen sich in geringen Nährmengen ganz außerordentlich gut erhalten. Die nächste Frage mußte nun sein, wie sie sich in Bouillon verhalten, die in absolut reinem Zustande zwar kein Wachstum der eingesäten Keime zuläßt, mit 3-proz. Glycerin versetzt, aber zu einem guten Nährboden für diese Bakterien wird. Es stehen uns dafür folgende Proben zur Verfügung: 4 Proben mit sofortiger Verimpfung an Tiere, 1 Probe, die nach 2 Stunden injiziert wurde, 1 Probe nach 8 Stunden, eine nach 24 Stunden, eine nach 48 Stunden, eine nach 7 Tagen und eine nach 2 Monaten (vergl. Versuchsreihe I, 2 und II, 2). Dabei sehen wir bis zu 48 Stunden durchaus keine Beeinflussung der Virulenz der darin aufgeschwemmten Bacillen, ja im Gegenteil, 2 Tiere, welche mit frischem bzw. 24 Stunden altem Material geimpft worden waren, gehen an einem akuten Tode zugrunde und zeigen bei der Obduktion nur hochgradigen Marasmus ohne lokale Manifestation des tuberkulösen Prozesses und ohne sonstige Todesursache. Dabei möchten wir den Ausführungen Beitzkes (31) gegenüber darauf hinweisen, daß wir dabei schon 8 Tage nach der Impfung, bevor noch tuberkulöse Veränderungen in den Inguinaldrüsen sich bemerkbar machten, auch in der nächsten Lymphdrüsenetappe, den Psoaslymphdrüsen Tuberkelbacillen auffinden konnten. Wir sehen also, daß die Lymphdrüsen nicht so dichte Bakterienfilter abgeben, wie jener Autor glaubt, daß im Gegenteil Tuberkelbacillen passieren können, bevor noch tuberkulöse Veränderungen die Schranken gelockert und durchbrochen haben, welche ihr maschiger Bau dem weiteren Vordringen der Mikroorganismen setzen soll. Eine Erklärung für diese plötzlichen Todesfälle liefern uns wohl die Gifte der Tuberkelbacillen, die, durch Bouillon ausgelaugt, gleichzeitig mit den Bacillen zur Verimpfung gelangten. Dafür sprechen die Beobachtungen von Maffucci (32), der durch Verimpfung toter Tuberkelbacillen ebenfalls nur Marasmus erhielt. Den gleichen Obduktionsbefund erhoben auch Calmette und Breton (33, 34) sowohl nach Verfütterung toter Tuberkelbacillen als auch durch Verfütterung von Tuberkulin bei gesunden Tieren und vorher tuberkulösen. Daß dann das mit der 24 Stunden alten Probe geimpfte Tier schon am 3. Tage, das mit der frischen Probe injizierte erst nach 8 Tagen diesem Intoxikationstod erlag, würde sich danach ganz leicht mit der größeren Giftmenge bei längerer Einwirkungszeit der Bouillon in Einklang bringen lassen. Die 7 Tage lang aufbewahrte Probe zeigt schon eine Verlangsamung des tuberkulösen Prozesses, indem das Tier mehr als doppelt so lange am Leben bleibt und bedeutend weniger an Gewicht abnimmt, wie die mit der gleichen Bacillenmenge verimpften 2 sofortigen Proben

(0,08 g pro 100 g Ausgangsgewicht und pro Tag nach der gesetzten Infektion gegenüber 0,55 g im Mittel bei den frischen Proben). Bei der nächsten Probe nach 2 Monaten haben die Tuberkelbacillen ihre Virulenz gänzlich verloren. Das Tier zeigt bei der Tötung nach 188 Tagen keine Zeichen einer stattgefundenen Infektion. Dieses Verhalten ist wieder ganz sonderbar und weicht völlig von dem ab, was wir nach den Erfahrungen mit der Nährstoff-Heyden-Lösung hätten erwarten können. Der Schlüssel zur Erklärung dieses Resultats dürfte in Versuchen Carnots (35) liegen. Denn dieser Autor fand, daß 3—10 Tropfen Tuberkulin, den Nährböden zugefügt, das Wachstum der Tuberkelbacillen stark begünstigen, so daß die Kulturen den Kontrollen gegenüber einen großen Vorsprung gewannen. War aber die zugesetzte Tuberkulinmenge größer, überstieg sie 30 Tropfen, so trat eine starke Verzögerung der Bakterienentwicklung auf. Auch in den mit geringen Tuberkulinmengen beschickten Röhrchen wurde der in den ersten 2 Wochen errungene Vorsprung wieder ausgeglichen durch den darauffolgenden Wachstumsstillstand, den Carnot auf Ueberladung der Kultur mit löslichen Produkten der Bacillen zurückführt, eine Ueberladung, die natürlicherweise in den tuberkulinisierten Röhrchen viel schneller erfolgt als in den Kontrollkulturen. Wir müssen demnach auch in unseren Versuchen den Untergang der Tuberkelbacillenvirulenz in Bouillon nach 60 Tagen auf Anhäufung der löslichen Produkte des Tuberkelbacillus zurückführen, und so würden sich die in dieser Versuchsreihe gewonnenen Resultate, der rasche akute Intoxikationstod bei frischen Proben, das gänzliche Erlöschen der Virulenz nach längerer Einwirkungszeit andererseits gegenseitig auf das beste ergänzen. Als Analoga dazu wären die Hemmungsstoffe von Conradi und Kurpjuweit (36) zu betrachten, die in älteren Coli-Kulturen zur Entwicklung gelangen sollen, ebenso die Pyocyanase Emmerichs (37), die ja die verschiedensten Bakterien aufzulösen vermag, wenn sie auch den Tuberkelbacillen selbst gegenüber sich unwirksam erwiesen hat. Unaufgeklärt und auffällig bleibt nur noch, warum sich in 1-proz. Nährstoff-Heyden-Lösung diese schädliche Wirkung des Tuberkulins nicht geltend macht, gleichwie auch Bachrach und Bartel bei Verwendung dieser Aufschwemmungsflüssigkeit niemals einen akuten Tod beobachteten. Sollte das eventuell darauf hindeuten, daß das Tuberkulin einer gegenseitigen Einwirkung von Bacillen und Bouillon seine vielstudierte Wirkung verdankt, daß auf anderen Nährböden wieder ganz andere sogenannte Tuberkelbacillentoxine gebildet werden? Studien über Filtrate aus flüssigen Nährstoff-Heyden-Kulturen liegen unseres Wissens nicht vor.

Wie lange sich Tuberkelbacillen in Glyzerinbouillon lebend und vollvirulent erhalten, wissen wir nicht. Wir selbst haben darüber keine systematischen Versuche angestellt. Da wir aber in anderen Versuchen oft bis über 3 Monate alte derartige Kulturen zur erfolgreichen Infektion von Tieren benutzten, müssen wir annehmen, daß unter dem ernährungsfördernden Einfluß des Glyzerins sich die Schädlichkeit der löslichen Produkte in weit geringerem Ausmaß geltend macht bzw. durch reichliches Wachstum kompensiert wird. Daß 8 Monate alte Glyzerinbouillonkulturen zwar noch wachstumsfähig, aber nicht mehr virulent sind, lehren uns Versuche Hammerschlags (6).

Eine weitere häufig verwendete und als indifferent geltende Flüssigkeit ist die physiologische Kochsalzlösung (0,75-proz.) oder neuerdings die sogenannte isotonische Kochsalzlösung von

0,9 Proz. NaCl-Gehalt. Um das Verhalten der Tuberkelbacillen-virulenz darin zu prüfen, verimpften wir folgende Proben: 4 Proben sofort, eine nach 2 Stunden, eine nach 8 Stunden, eine nach 24 Stunden, 2 nach 48 Stunden, eine nach 7 Tagen, eine nach 33 Tagen und eine nach 2 Monaten (siehe Versuchsreihe I, 1, II, 1 und III, 1). Wir sehen dabei innerhalb der ersten 24 Stunden eine progrediente Abnahme der Virulenz, wie sie in zunehmender Lebensdauer und in verzögerter Infiltratbildung derart gesetzmäßig zum Ausdruck kommt, daß wir dabei einen einfachen Zufall füglich ausschließen können, wenn uns auch dafür nur eine Versuchsreihe zur Verfügung steht. Von da ab tritt wieder eine Zunahme der Virulenz ein, die mit 48 Stunden noch lange nicht ihre ursprüngliche Höhe erreicht hat. Mit 7 Tagen indessen ist sie so vollständig wieder ersetzt, daß man dabei überhaupt keinen Unterschied gegenüber den sofort verimpften Proben erkennen kann. Dasselbe gilt für die Probe nach 33 Tagen. Eine leichte Abnahme der Virulenz erscheint dann erst wieder von 2 Monaten an. Dabei dürfen wir uns freilich nicht verhehlen, daß bei derartigen Versuchen die Menge der eingesäten Keime sicherlich eine bedeutende Rolle spielt, indem ja naturgemäß geringe Differenzen sich um so eher bemerkbar machen werden, je geringer die Zahl der Keime ist, je näher man also der Dosis letalis minima kommt. Umgekehrt dürften sich durch zu dichte Aufschwemmung die hier gefundenen Verhältnisse wohl mehr oder weniger verwischen. Wir sehen also durch unsere Untersuchungen zwar die Vermutung v. Lingelsheims (4) bestätigt, müßten aber doch auch Balladoro-Pallieri (3) beipflichten, wenn er bei 7-tägigen Proben keine Virulenzabnahme beobachten konnte. Wir müssen annehmen, daß bei der Einsaat von Tuberkelbacillen in die Kochsalzlösung sich zunächst der schädliche Einfluß des Kochsalzes, sei es infolge osmotischer Verhältnisse, sei es aus anderen Ursachen, worauf wir noch später zurückkommen, in steigendem Maße geltend macht, daß aber dann zwischen dem 2. und 7. Tage eine Gewöhnung der Bacillen an das schädliche Medium eintritt, indem die osmotischen Differenzen sich ausgleichen, die Tuberkelbacillen sich der umgebenden Noxe anpassen. So erhält sich dann ihre Virulenz vollkommen und bleibt dann anscheinend ungestört auf der ursprünglichen Höhe, nach unseren Versuchen wenigstens bis zu 2 Monaten. Etwas ähnliches beobachten wir ja auch bei der Bakterizidie aktiver Sera anderen schnelllebigen Mikroorganismen gegenüber, ja selbst bei Einwirkung 0,7-proz. Kochsalzlösung. Zum Vergleiche möchten wir diesbezüglich zwei Tabellen Jettters (38) anführen, welche er erhielt, wenn er Milzbrandbacillen in verschiedener Zahl in 0,7-proz. Kochsalzlösung einsäte.

Zahl der Keime sofort	2500	350
nach 3 Stunden	54	7
" 5 "	45	5
" 22 "	∞	∞
Zahl der Keime sofort	2400	3100
nach 4 Stunden	1800	1100
" 6 "	1600	475
" 24 "	∞	∞

Der Parallelismus zwischen unseren Ergebnissen in Versuchsreihe I und den angeführten Tabellen Jettters ist so auffallend, daß wir glauben möchten, daß die virulenzschädigende Wirkung des Kochsalzes ebenfalls durch eine progrediente Abnahme, ein fortschreitendes Absterben der

Tuberkelbacillen bedingt ist. Dann würde sich aus der langsameren Wachstumsfähigkeit der Tuberkelbacillen hinreichend erklären, warum die Restitution der ursprünglichen Virulenzhöhe (= Bakterienzahl) etwas längere Zeit beansprucht, als das Auswachsen eingesäter anderer Keime bis zum unendlichen bei den Bakterizidieversuchen mit aktivem Serum oder mit Kochsalz. Es findet eben eine innerhalb der ersten 24 Stunden immer stärkere Vernichtung von Tuberkelbacillen statt, so daß nur wenige übrig bleiben, die dann bis zum 7. Tage, vielleicht auch schon in kürzerer Frist, wieder neue Bacillengenerationen erzeugen. Wahrscheinlich spielt dabei auch die von Székely und Szana (39) bei Bakterizidieversuchen ermittelte Tatsache eine Rolle, wonach das Absterben der Keime nicht quantitativ vor sich geht, sondern proportional der eingesäten Keimmenge erfolgt, so daß selbst bei geringster Bacillennmenge immer noch einige am Leben bleiben, von denen die Regeneration der Infektionsträger ausgeht. Diese neugebildeten Bacillen nun erweisen sich gegen weitere Schädlichkeiten gefeit, einerseits schon deshalb, weil ihnen ja ein Wechsel osmotisch differenter Medien erspart bleibt, andererseits kommt dabei vielleicht auch in Betracht, daß durch natürliche Auslese die resistenzfähigsten übrig bleiben, die dem schädlichen Medium gewachsen sind und neue kräftigere Bacillen erzeugen. Daß Bakterien durch eine Art „Training“ an sonst für sie deletäre Flüssigkeiten gewöhnt werden können, lehren die Versuche Franklands (40). Er konnte nämlich zeigen, daß Typhusbacillen, die einer länger dauernden allmählichen Züchtung in mehr und mehr mit Wasser verdünnten Kulturmedien unterzogen worden waren, im Trinkwasser dann eine bedeutend größere Lebensfähigkeit entfalteten als andere Bakterien. Ähnliche Beobachtungen wurden auch sonst schon vielfach gemacht. So sah Shaw (41) Erhöhung der Virulenz von Milzbrand- und Typhusbacillen nach wiederholter Züchtung auf aktivem Blutserum, Walker (42) bei Typhusbacillen durch wiederholte Tierpassage. Vallée (43) konnte ein gleiches bei Schweinerotlaufbacillen konstatieren, die in Collodiumsäckchen in die Bauchhöhle gegen Schweinerotlauf immunisierte Kaninchen gebracht worden waren. Hamburger (44) zeigte dasselbe bei Cholera-vibrionen, die im Anticholeraserum eines Meerschweinchens gezüchtet worden waren. Daß derartige erworbene Eigenschaften auch auf die aus so beeinflussten Bacillen neu hervorgegangenen Generationen übergehen, konnte endlich Cohn (45) an Typhusbacillen zeigen, die er fortschreitend an die Alexine des normalen Blutserums gewöhnt hatte.

Setzt man einer isotonischen Kochsalzlösung 3-proz. Glycerin zu, so zeigt sich der deletäre Einfluß des Kochsalzes noch deutlicher. Gleichwie dort, sehen wir das mit 2 Tage altem Material geimpfte Tier fast doppelt so lange am Leben bleiben, das Auftreten des Impfinfiltrates verzögert sich um weitere 2 Wochen, das Tier nimmt bedeutend weniger an Gewicht ab im Vergleich mit dem Impftier der frischen Probe (0,14 g pro 100 g Meerschweinchen und pro Tag nach gesetzter Infektion gegenüber 0,62 g). Während aber in reiner Kochsalzlösung sich von diesem Zeitpunkt an die Virulenz wiederherstellt und vom 7. Tage an bis zu 33 Tagen die ursprüngliche Höhe aufweist, sind in der Glycerin-Kochsalzprobe die Tuberkelbacillen mit 33 Tagen gänzlich avirulent geworden. Es tritt während des ganzen Verlaufes kein Impfinfiltrat auf, das Tier nimmt konstant an Gewicht zu und zeigt bei der Tötung 155 Tage nach der Infektion keine Zeichen von Tuberkulose. Dieses Verhalten entspricht ganz den Vorstellungen, die wir uns nach

den oben angeführten Erfahrungen über den Einfluß des Glycerins auf Tuberkelbacillen machen mußten. Es tritt dadurch die schädliche Wirkung der Aufschwemmungsflüssigkeit noch deutlicher zutage. Dabei kommt sicher noch in Betracht, daß die so erhaltene Suspensionsflüssigkeit eine noch weit höhere osmotische Konzentration besitzt, die der einer 2,17-proz. Kochsalzlösung gleichkommt. Immerhin erhellt auch hieraus wieder, daß eine Kochsalzlösung keine indifferente Aufschwemmungsflüssigkeit für Tuberkelbacillen vorstellt.

Daß Kochsalz in konzentrierter Lösung für Tuberkelbacillen giftig ist, ist schon lange bekannt. Schon Galtiers (46, 47) Versuche beweisen das, wonach die Tuberkelbacillen in eingesalzenen tuberkulösen tierischen Organen nach 1 bzw. in anderen Versuchen nach 2 Monaten keine Tuberkulose des Impftieres mehr hervorrufen, während sie freilich nach 24 Stunden und nach 8 Tagen noch infektionstüchtig sind. Die Menge des dabei verwendeten Kochsalzes ist sehr groß, indem er 6 g zu 16 g Organ zusetzte. Ein Ähnliches ergibt sich aus Versuchen von Petterson (48). Denn er fand bei einer Butter mit 4 Proz. Salzgehalt und großer Bacillenmenge zwar noch nach 4 Wochen infektionstüchtige Keime darin, waren aber die Bacillen in geringerer Menge der Butter zugesetzt worden, dann hatten sie nach 3 Wochen ihre Virulenz verloren. Auch bei diesen Versuchen ist die Salzkonzentration eine sehr große, da nach des Autors Berechnungen eine solche Butter eine 15,8-proz. Salzlake enthält, welche letztere ausschließlich für die Beeinflussung der Tuberkelbacillenvirulenz in Betracht kommt. War der Salzgehalt der Butter noch größer, so daß sie eine Salzlake von 29,3 Proz. enthielt, so büßten die Tuberkelbacillen schon nach 7 Tagen ihre Virulenz ein. Endlich lassen sich noch Erfahrungen Hellströms (49) in diesem Sinne verwerten, da er nur bei Verimpfung salzreicher Butterproben tuberkulöse Veränderungen der Impftiere konstatieren konnte. Abweichend davon sind die Resultate de Freytags (50). Wenn er tuberkulöses Sputum mit Kochsalz bedeckte, konnte er selbst nach paar wochenlanger Einwirkung noch rasch verlaufende Tuberkulose der Impftiere beobachten. Eingepökelte Perlsuchtorgane riefen noch nach 4 Monaten Tuberkulose der Tiere hervor. Wurden Strichkulturen auf Agar mit Kochsalz überdeckt, so erhielt sich die Lebensfähigkeit der Tuberkelbacillen ebenfalls 4 Monate lang. Ueber ihre Virulenz kann dabei nichts ausgesagt werden, da bei dieser Versuchsreihe keine Tierimpfungen vorgenommen wurden. Die Erklärung für die Befunde de Freytags liegt vielleicht in dem geringen Flüssigkeitsgehalt seiner Proben, so daß nur wenig gelöstes Kochsalz zur Wirkung gelangte, denn für den schädlichen Einfluß des Chlornatriums kommen wohl nur seine Ionen in Betracht. Berücksichtigen wir dabei, daß nach den Analysen von Proskauer und Beck (25) in Tuberkelbacillen nicht die geringsten Spuren von Chlor enthalten sind, während nach de Schweinitz und Dorset (51) ihre Asche 13,62 Proz. Natron enthält, berücksichtigen wir ferner die Erfahrungen von Rost (52), dem es gelang, auf vollkommen salz- d. h. chlorfreien Nährböden ein üppiges Wachstum von Tuberkelbacillen innerhalb von 1—3 Tagen zu erhalten, so möchten wir uns eher der Meinung zuneigen, daß vor allem die Cl-Ionen das schädliche Agens vorstellen. Immerhin könnte auch die Verarmung der Bacillenleiber an Ionenproteiden dabei eine Rolle spielen, denn die Tuberkelbacillen enthalten ja solche in großer Menge. So entfallen nach den Analysen von de Schweinitz und Dorset (51) 13,62 Proz. ihrer

Asche auf Na_2O , 6,35 Proz. auf K_2O , 12,64 Proz. auf CaO , 11,55 Proz. auf MgO . So kann es uns denn auch nicht wundern, daß die Tuberkelbacillen in einer Lösung, welche nur Na-Ionen enthält, durch Abgabe der übrigen Metall-Ionen an Vitalität einbüßen müssen. Wenn dem so wäre, müßte sich in einer Flüssigkeit, die noch andere Metall-Ionen enthält, diese schädliche Wirkung nicht oder wenigstens in schwächerem Ausmaße nachweisen lassen. Denn nicht nur für tierische Zellen und Organismen gilt dieses von Loeb (53) zunächst aufgestellte Gesetz der äquilibrierten Salzlösungen, auch für pflanzliche Zellen läßt sich der schützende Effekt einer solchen Beimischung zur isotonischen Kochsalzlösung ganz unzweideutig erweisen, wie die Untersuchungen von Osterhout (54, 55) und Beneke (56) dartun. Zu diesem Behufe haben wir auch bei Tuberkelbacillen mit Ringer-Loebscher Flüssigkeit Versuche angestellt (siehe Versuchsreihe III, 3). Und tatsächlich sehen wir nach 2 Tagen noch kaum eine nennenswerte Virulenzabschwächung, indem das Impftier nur wenig länger lebt als das Tier der frisch verimpften Probe und eher mehr an Gewicht verliert als jenes. Mit 33 Tagen freilich ist auch in dieser Aufschwemmungsflüssigkeit die Virulenz der Keime vollständig erloschen, die wir in reiner Kochsalzlösung noch zu dieser Zeit erhalten sahen. Ob das Zufall ist, da uns ja nur ein Tier zur Verfügung steht, oder ob das darin seinen Grund haben mag, daß bei Ringer-Loebscher Flüssigkeit sich der Nährstoffmangel noch empfindlicher fühlbar machen muß, da eben nicht durch sofortigen Tod einer großen Bacillenzahl von vornherein verfügbares Nährmaterial den überlebenden Mikroben zu Gebote steht, möchten wir unentschieden lassen. Diese Deutung wird aber nahegelegt durch das Ergebnis einer weiteren Versuchsreihe (III, 3b), wo Ringer-Loebsche Flüssigkeit mit 3 Proz. Glycerin zur Verwendung kam. Denn während Glycerin in reiner Kochsalzlösung die giftige Wirkung des Chlornatriums nur noch deutlicher hervortreten ließ, ist hier gerade das Umgekehrte der Fall. Selbst das Impftier der 33 Tage alten Probe lebt nur 45 Tage und geht an allgemeiner Tuberkulose zugrunde mit einem Gewichtsverlust von 1,07 g pro 100 g des Durchgangsgewichtes und pro Tag nach der gesetzten Infektion.

Eine besondere Besprechung verdienen noch die bei dieser letzterwähnten Reihe (Ringer-Loeb mit Glycerinzusatz) beobachteten großknotigen Tuberkuloseformen, wie wir sie sonst bei unseren vielen Arbeiten auf dem Gebiete experimenteller Meerschweinchentuberkulose nur einmal noch zu sehen Gelegenheit hatten. Auch in der Literatur existieren nur wenig Angaben über analoge Formen von Impftuberkulose. So erhielten Troye und Tangl (57) bei Kaninchen solche Bilder durch Injektion von Tuberkelbacillen, welche durch Jodoform in ihrer Virulenz abgeschwächt waren. Christmann (58) beobachtete ähnliches bei den Tuberkelbacillen, die mittels Europen beeinflusst waren. Aber bei beiden Autoren handelt es sich um sehr chronisch verlaufende Krankheitsprozesse, während in unseren Fällen derartige Befunde bei einem rasch zum Tode führenden Krankheitsablauf erhoben werden konnten. Ebenfalls chronischen Verlauf mit ähnlichem Obduktionsbefund konstatierten Schmaus und Uschinsky (59), wenn sie gewöhnlich infizierte Meerschweinchen mit alkalischem Thymusdekot behandelt. Wir können also sagen, daß nach dem vorliegenden Tatsachenmaterial einerseits in ihrer Virulenz abgeschwächte Tuberkelbacillen gelegentlich solche Krankheitsbilder erzeugen, andererseits vollvirulente Tuberkelbacillen bei ex-

perimenteller Beeinflussung des infizierten Meerschweinchenorganismus. In unseren Fällen trifft aber keine dieser Möglichkeiten zu. Der rasche Verlauf der Infektion spricht gegen eine Abschwächung der Bacillen. Eine spezifische Beeinflussung der Meerschweinchen durch die Ringer-Loebische Flüssigkeit oder durch das Glycerin kann unmöglich zugrunde liegen, weil wir die gleichen Veränderungen auch in anderen Versuchen der Reihe III beobachten konnten, so bei 2 Tieren, die mit Bacillen geimpft wurden, welche in reinem Wasser aufgeschwemmt waren, ferner bei einer in Wasserglycerin aufgehobenen Probe. Eine Mischinfektion liegt nach dem Ergebnis der bakteriologisch-mikroskopischen Untersuchung nicht vor. Ebenso können wir eine besondere Disposition der betreffenden Tiere ausschließen, weil Verimpfungen von Teilen solcher großknotiger Produkte auf andere Meerschweinchen dieselbe Tuberkuloseform hervorriefen. So müssen wir diese auffallenden Befunde einstweilen unerklärt lassen und möchten nur noch erwähnen, daß wir die gleichen Bilder auch gelegentlich einer Fütterungsinfektion von Meerschweinchen sahen, wo einzelne der mit Tuberkelbacillenreinkultur gefütterten und dann mit Milztabletten per os behandelten Tiere in relativ sehr kurzer Zeit mit großen Knoten in mesenterialen Lymphdrüsen, in Milz und Leber zugrunde gingen. Vielleicht gelingt es durch weitere Beobachtung solcher Fälle, die Ursache für diesen sonderbaren Impfverlauf aufzuklären.

Fassen wir nun zum Schlusse die praktisch wichtigsten Ergebnisse unserer Arbeit noch einmal kurz zusammen, so kommen wir zu folgenden Schlußsätzen:

1) Als tatsächlich „indifferente“ Aufschwemmungsflüssigkeit für Tuberkelbacillen kann nach unseren Ermittlungen und den darüber vorliegenden Daten der Literatur eine 1-proz. Nährstoff-Heyden-Lösung betrachtet werden, in der sich diese Bacillen lange Zeit ungeschwächt virulent erhalten. Ähnliches dürfte für Wasser gelten, dem ziemlich reichlich Sputum zugesetzt ist, wie wir dies aus Museholds Untersuchungen erschließen können. Möglicherweise dürfte sich auch eine mit 3 Proz. Glycerin versetzte Ringer-Loebische Flüssigkeit als völlig indifferent erweisen, doch wären zur einwandfreien Feststellung dieser Tatsache noch weitere und noch mehr Impfproben notwendig, als wir sie anstellten. Auch Glycerinbouillon dürfte gänzlich unschädlich sein, doch können wir selbst darüber keine eigenen genauen Angaben machen.

2) Alle übrigen geprüften Suspensionsmittel, wie destilliertes Wasser, Fluß- und Regenwasser, physiologische und isotonische Kochsalzlösung, Ringer-Loebische Flüssigkeit und Bouillon, erwiesen sich als durchaus nicht gleichgültig für die Virulenz der eingesäten Tuberkelbacillen und können daher nicht als Kontrollen bei Virulenzuntersuchungen der Tuberkelbacillen zur Verwendung gebracht werden.

3) Glycerinzusatz zeigt eine ganz eigentümliche Wirkung. Er erhöht die Schädlichkeit eines an sich schädlichen Mediums noch mehr. Bei wirklich indifferenten Aufschwemmungsflüssigkeiten dagegen erweist er sich

von großem Wert für das Wachstum und die Virulenz-
erhaltung der Tuberkelbacillen.

Literatur.

- 1) Bartel u. Neumann, Leukocyt und Tuberkelbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. Heft 5.)
- 2) —, Lymphocyt und Tuberkelbacillen. (Ibid. Bd. XL. Heft 4.)
- 3) Balladoro-Pallieri, Azione del plasma muscolare di animali sani ed immunizzati sul bacillo di Koch. (Ann. dell'Istituto Maragliano. Vol. I. 1904. Settembre.)
- 4) v. Lingelsheim, Ueber die Bedeutung der Salze für die bakterizide Wirkung des Serums. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1901. p. 131.)
- 5) Martin, Note sur la culture du bacille de la tuberculose. (Arch. de méd. expér. T. I. 1889. p. 77.)
- 6) Hammerschlag, Bakteriologisch-chemische Untersuchungen über Tuberkelbacillen. (Centralbl. f. klin. Med. 1891. S.-A.)
- 7) Chantemesse et Vidal, Resistance des germes de la tuberculose dans l'eau de rivière. (Congrès pour l'étude de la tuberculose. 1888. p. 317.)
- 8) Strauch u. Dubarry, Recherches sur la durée de la vie des microbes pathogènes dans l'eau. (Arch. de méd. expér. T. I. 1889. p. 5.)
- 9) Musehold, Ueber die Widerstandsfähigkeit der mit dem Lungenauswurf herausbeförderten Tuberkelbacillen in Abwässern, im Flußwasser und im kultivierten Boden. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XVII. 1900. p. 56.)
- 10) Abba, Sulle pessime condizioni batteriologiche dell'acqua benedetta nelle chiese e sulla presenza in essa de bacillo della tubercolosi. (Rivista d'Igiene e sanità pubbl. Vol. X. p. 879. Zit. nach Gotschlich im Handb. f. pathogene Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann. Bd. I. 1903. p. 191.)
- 11) Bachrach u. Bartel, Ueber den Einfluß der Hefenukleinsäure auf die Virulenz menschlicher Tuberkelbacillen. (Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 35.)
- 12) Ficker, Ueber Lebensdauer und Absterben von pathogenen Keimen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX. 1898. p. 1.)
- 13) v. Nägeli, Ueber oligodynamische Erscheinungen in lebenden Zellen. (Neue Denkschr. d. allg. schweizer. Ges. f. d. ges. Naturwissensch. Abt. I. Bd. XXXIII. 1893. Zit. nach Ficker, l. c.)
- 14) Mylius u. Foerster, Ueber die Beurteilung von Glasgefäßen zu chemischem Gebrauche. Die Einwirkung von Wasser auf Glas. (Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. XXXI. 1892. p. 241.)
- 15) Foerster, Vergleichende Prüfung einiger Glassorten hinsichtlich ihres chemischen Verhaltens. (Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. XXXIII. 1894. p. 381.)
- 16) Molisch, Sitzungsber. d. math.-naturwissensch. Kl. d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. Wien. 1895. p. 795.
- 17) Beneke, Die zur Ernährung von Schimmelpilzen nötigen Metalle. (Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXVIII. 1895. p. 487.)
- 18) —, Untersuchungen über den Bedarf der Bakterien an Mineralstoffen. (Botan. Ztg. Bd. LXV. 1907. p. 1.)
- 19) v. Fehling, Handwörterb. d. reinen u. angewandten Chemie. Bd. IX. 1864.
- 20) Ladenburg, Handwörterb. d. Chemie. Bd. XIII. Breslau 1895.
- 21) Koeppe, Physikalische Chemie in der Medizin. Wien 1900. Zit. nach Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre in den medizinischen Wissenschaften. Bd. III. 1904.
- 22) Bauer, zit. nach v. Fehling, l. c.
- 23) Ficker, Wachstum der Tuberkelbacillen auf sauren Gehirnnährböden. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. 1900. p. 504.)
- 24) Guyot, L'espettorato come mezzo di coltura nel bacillo della tubercolosi. (Gazetta degli ospedali. 1903. No. 80.)
- 25) Proskauer u. Beck, Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Tuberkelbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVIII. 1894. p. 128.)
- 26) v. Lingelsheim, zit. bei Cornet, Die Tuberculose. p. 31. Wien 1907.
- 27) Fischer, Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle und das bakterizide Serum. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXV. 1900. p. 1.)
- 28) Kinyoun, The action of glycerin on bacteria in the presence of cell exsudates. (Journ. of exper. med. Vol. VII. 1905. p. 725. Nov.)
- 29) Maragliano, zit. in Bronstein u. Fraenkel, Der gegenwärtige Stand der Serumtherapie der Tuberculose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXII. p. 481.)
- 30) Bahrdt, Experimentelle Untersuchungen über die Tuberkulinreaktion. (Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXVI. 1906. p. 418.)

- 31) Beitzke, Ueber den Weg der Tuberkelbacillen von der Mund- und Rachenhöhle zu den Lungen, mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse beim Kinde. (Virchows Arch. Bd. CLXXXIV. p. 1.)
- 32) Maffucci, Ueber die Wirkung der reinen sterilisierten Kulturen des Tuberkelbacillus. (Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. I. 1890. p. 825.)
- 33) Calmette et Breton, Sur les dangers de l'ingestion de bacilles tuberculeux tués par la chaleur chez les animaux tuberculeux et chez les animaux sains. (Recherches expérimentales sur la tuberculose par Calmette. Paris 1907. Fasc. 1. p. 115.)
- 34) — —, Sur les effets de la tuberculine absorbée par le tube digestif chez les animaux sains et chez les animaux tuberculeux. (Ibid. p. 117.)
- 35) Carnot, Influence de la tuberculine sur le développement des cultures de tuberculose humaine. Avantage des milieux tuberculinisés. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1898. p. 765.)
- 36) Conradi u. Kurpjuweit, Ueber die Bedeutung der Bakterienhemmungstoffe für die Physiologie und Pathologie des Darmes. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 45. u. 46.)
- 37) Emmerich, Die Pyocyanase als Prophylaktikum und Heilmittel bei bestimmten Infektionskrankheiten. (Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 45. p. 2207.)
- 38) Jetter, Untersuchungen über die „bakteriziden“ Eigenschaften des Blutserums. (Arch. a. d. pathol. Institut Tübingen. Bd. I. 1891—92. p. 421.)
- 39) v. Székely u. Szana, Experimentelle Untersuchungen über die Veränderungen der sogenannten mikrobiziden Kraft des Blutes während und nach der Infektion des Organismus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XII. 1892. p. 61.)
- 40) Frankland, Ueber das Verhalten des Typhusbacillus und des Bacillus coli communis im Trinkwasser. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIX. 1895. p. 393.)
- 41) Shaw, On exaltation of bacterial virulence by passage in vitro. (Brit. med. Journ. 1903. p. 1074. May.)
- 42) Walker, Immunisation against immune serum. (Journ. of path. and bact. Vol. III. 1902.)
- 43) Vallée, Exaltation de la virulence dans les humeurs des animaux hyperimmunisés. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1899. p. 432.)
- 44) Hamburger, Ueber spezifische Virulenzsteigerung in vitro. (Wien. klin. Wochenschrift. 1903. p. 97.)
- 45) Cohn, Ueber Immunisierung von Typhusbacillen gegen die bakterizide Kraft des Serums. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. 1903. p. 61.)
- 46) Galtier, Dangers des matières tuberculeuses qui ont subi le chauffage, la dessiccation, le contact de l'eau, la salaison, la congélation, la putréfaction. (Compt. rend. de l'Acad. d. sciences. II. sem. T. CV. 1887. p. 231.)
- 47) — —, Congrès pour l'étude de la tuberculose. (Compt. rend. et memoires. 1889. p. 79. Zit. nach de Freytag, siehe 50.)
- 48) Petterson, Ueber die Lebensbedingungen des Tuberkuloseerregers in der Salzbutter. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. p. 274.)
- 49) Hellström, Ueber Tuberkelbacillennachweis in Butter. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVIII. p. 542.)
- 50) de Freytag, Ueber die Einwirkung konzentrierter Kochsalzlösungen auf das Leben von Bakterien. (Arch. f. Hyg. Bd. XI. 1890. p. 60.)
- 51) de Schweinitz u. Dorset, Ueber die mineralischen Bestandteile der Tuberkelbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. No. 25.)
- 52) Rost, On the pathology and treatment of leprosy. (Brit. med. Journ. 1905. 1. February 11.)
- 53) Loeb, Weitere Bemerkungen zur Theorie der antagonistischen Salze. (Pflügers Arch. Bd. CVII. 1905. p. 252.)
- 54) Osterhout, Ueber die Bedeutung physiologischer Salze für die Pflanzen. I. Meerespflanzen. (Botan. Gazette. 1906. p. 1906.)
- 55) — —, II. Süßwasser- und Landpflanzen. (Naturwissenschaftl. Rundschau. 1907. p. 1907.)
- 56) Beneke, Ueber die Giftwirkung von Calciumsalzen. (Naturwissenschaftl. Rundschau. 1907. p. 1907.)
- 57) Trove u. Tangl, Ueber die Form der Impfstoffe. (Naturwissenschaftl. Rundschau. 1907. p. 1907.)
- 58) Christmann, Ueber die Wirkung von Alkalien auf die Tuberkelbacillen. (Naturwissenschaftl. Rundschau. 1907. p. 1907.)
- 59) Schmaus, Ueber die Wirkung von Alkalien auf die Tuberkelbacillen. (Naturwissenschaftl. Rundschau. 1907. p. 1907.)

Nachdruck verboten.

Der Erreger der Pneumonie eines Königstigers (*Bacillus pneumoniae tigris*).

Von Stabsarzt Prof. Dr. E. Marx, Frankfurt a. M.

Nachdem Hueppe den Typus des *Bacillus bipolaris septicus* aufgestellt hatte, folgten sehr bald zahlreiche Beschreibungen von Mikroben, die Varietäten dieses Typus waren. Wenn alle diese Vertreter der Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie oder der Pasteurella, wie sie später Lignières nannte, auch in ihren allgemeinen Eigenschaften sich glichen, so variierten sie doch mit Konstanz wiederum in einer immerhin erheblichen Zahl von Punkten, so daß es gerechtfertigt erschien, hier von echten botanischen Varietäten zu sprechen. Allerdings möchte ich bezweifeln, ob dies für alle beschriebenen Mikroben zutrifft, aber immerhin steht für viele die Berechtigung der besonderen Benennung nicht in Frage. In bezug auf die Einzelheiten sei auf das Werk von Lignières „*Contribution à l'étude et à la classification des septicémies hémorrhagiques*“ verwiesen.

Im Folgenden möchte ich in Kürze eine Pasteurella beschreiben, die ich Gelegenheit hatte, aus der Lunge eines im Zoologischen Garten zu Frankfurt a. M. gestorbenen Königstigers zu züchten, da sie, besonders in den ersten Generationen, einige Merkmale aufwies, in denen sie von dem typischen Verhalten der sonst beschriebenen Pasteurellen, wenigstens soweit wie mir bekannt ist, abwich.

Was zunächst den Tiger anbelangt, so handelte es sich um einen indischen Tiger, der sich $\frac{1}{2}$ Jahr im hiesigen Garten befand. 14 Tage vor seinem Tode erkrankte er unter Erscheinungen, die für eine Pneumonie sprachen. Die von Herrn Dr. Goldschmidt (Senckenbergische Anatomie) ausgeführte Obduktion hatte folgendes Ergebnis:

Diagnose: „Chronische zum Teil abszedierende und subakute hämorrhagische Pneumonie beider Lungen, besonders der Unterlappen. Kavernenbildung besonders im rechten Unterlappen. Oedem und Hyperämie beider Lungen, bullöses Emphysem. Myodegeneratio cordis. Leber in beginnender Fäulnis. Milz, Darm, Nieren, Genitalien o. B. Halsorgane und Gehirn nicht sezirt.“

Es handelte sich also um zwei verschiedene Prozesse, eine chronische Bronchitis und eine frische hämorrhagische Pneumonie. Im Ausstrichpräparat der Lungen (das Herzblut wurde leider nicht untersucht) konnten äußerst spärliche, winzig kleine Mikroorganismen nachgewiesen werden, die sich nicht nach Gram färbten, Andeutung von Polfärbung gaben, aber so klein waren, daß nur die Andeutung der Polfärbung dafür sprach, daß es sich nicht um Kokken, sondern um Bakterien handelte.

Mit dem blutigen Abstrich wurden verschiedene Nährböden beschickt. Es gelang auf 2 Röhrchen (ein Agar- und ein Loeffler-Serumröhrchen) je zwei kleine tautropfenähnliche Kolonien zu erhalten, die in ihrer Zartheit und Farbe auf dem Blutagar, zu dem der Agar durch den Ausstrich geworden war, völlig denen der Influenza glichen. Auf dem Agar waren es sehr kleine influenzaähnliche Stäbchen, auf dem Loeffler-Serum längere und schlankere Formen. Bei der weiteren Ueberimpfung auf Loeffler-Serum, gewöhnlichen Agar und Blutagar, versagte der

gewöhnliche Agar vollständig, nur Blutagar und Loeffler-Serum, das allerdings aus einem sehr sanguinolentem Serum dargestellt war, also Hämoglobin wenigstens in kleinen Mengen enthielt, ergab die weiter unten zu beschreibenden Kolonien. Erst in der 4. Generation gelang es, nachdem immer und immer wieder die Kultur auf Agar versucht worden war, auch auf gewöhnlichem Agar Wachstum zu erzielen.

Das Aussehen der Mikroben ist auf den verschiedenen Nährböden etwas verschieden. Auf Agar und auf Bouillon sind es ovoide Stäbchen, deren Länge zwischen 0,6 und 0,8 μ meistens schwankt, nur vereinzelte größere bis zu 1 μ messende Exemplare werden sichtbar. Hin und wieder wird ein längerer Scheinfaden beobachtet.

Auf Blutagar überwiegen die größeren 1 μ betragenden Formen. Auch das ovoide Aussehen der Stäbchen vom Agar ist meist nicht zu beobachten, sondern haben fast alle Individuen eine schöne Stabform.

Auf Loeffler-Serum wachsen die Bacillen als schlanke tuberkelbacillenähnliche meist 2 μ lange Stäbchen.

Im hängenden Tropfen kann man die absolute Unbeweglichkeit konstatieren.

Die Kultureigentümlichkeiten des *Bacillus* sind folgende:

Auf Blutagar bilden sich sehr feine stecknadelspitzgroße Kolonien, die bei dichter Aussaat in einigen Tagen einen zusammenhängenden Rasen bilden, der nie den Rand des Reagenzglases erreicht. Von oben betrachtet hat der Belag einen leicht grauen Farbenton, während er bei durchfallendem Licht ganz durchscheinend ist. Bei ganz isoliertem Wachstum entstehen Riesenkolonien, die einen Durchmesser von fast 1 mm erreichen können. Diese sind leicht gewölbt und von grün-gelblicher Farbe. Die Beläge haften niemals dem Nährboden fest an, sie sind aber etwas schleimig und klebrig, so daß eine Verreibung in Kochsalzlösung oder Bouillon nicht gelingt. Es ergibt immer nur Bilder wie bei einer guten Agglutination. Blutfarbstoff, wenigstens aus Tauben- und Kaninchenblut, wird nicht gelöst.

Auf Agar ist das Wachstum jetzt recht gut, dem auf Blutagar sehr ähnlich. Der Belag ist aber anfangs so dünn, daß auf den ersten Blick die Röhrchen unbewachsen erscheinen, nur die Ränder des Belages zeigen ein üppigeres Wachstum von grünlicher Farbe. Auch diese Kulturen sind klebrig und lassen sich nicht zerreiben.

Auf Loeffler-Serum bildet sich ein ganz dünnes Häutchen, das nur an den Rändern ganz schwach sichtbar ist. Erst die mikroskopische Untersuchung lehrt, daß die ganze Oberfläche bewachsen ist. Nach 3—4 Tagen, in der letzten Zeit auch schon oft am 2. Tage, ist der Bakterienbelag als dünne, feuchte, etwas irisierende Auflagerung zu erkennen.

Im Bouillonröhrchen kommt es zu einem relativ gutem Wachstum, wenn dieses nur 1—2 cm hoch eingefüllt ist. Es kommt dann zu einem Bakterienwachstum in der ganzen Bouillon, doch stets in feinen Klümpchen, so daß der Eindruck der Agglutination entsteht. Nach einigen Tagen bildet sich ein Bodensatz und ein schwaches Häutchen. Sehr kümmerlich ist das Wachstum bei hoher Bouillonfüllung. Hier bleibt die Bouillon klar und nur ein ganz geringer Bodensatz, aus Bakterien bestehend, kann nachgewiesen werden.

Im Traubenzucker bei hoher Schicht kommt nur in der Oberfläche ein ganz kümmerliches Wachstum zustande. Der Mikrobe ist offenbar sehr streng aerob. Auf Kartoffel, und zwar weder auf der natürlich

sauerem noch auf der alkalisierten, konnte der Bacillus zum Wachstum gebracht werden.

In Gelatine bei 20° tritt nach 2—3 Tagen kümmerliches Wachstum (sehr kleine weißliche Kolonien) auf. Das Temperaturoptimum ist eben Bruttemperatur.

Der Bacillus vermag nicht Indol zu bilden.

Seine Ueberimpfbarkeit ist auf gewöhnlichem Agar sehr gering. Schon nach 10 Tagen waren die Kulturen nicht mehr abimpfbar, während Blutagarkulturen noch ohne weiteres nach 43 Tagen angingen.

Gegen Desinfizienten und Wärmeeinfluß ist er sehr hinfällig. Eine 1-stündige Erwärmung auf 60° vermochte ihn stets glatt abzutöten.

In seiner Pathogenität entspricht er dem Verhalten der übrigen Mikroben der Pasteurellagruppe. Er vermag in kleinen Dosen unter dem Bilde einer allgemeinen Septikämie Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen zu töten, doch ist seine Kaninchenvirulenz nicht sehr bedeutend, da ein mit 1 ccm intravenös geimpftes Tier in einem Falle mit dem Leben davonkam.

Interessant ist, daß er für Katzen nicht besonders virulent zu sein scheint. Eine Katze überstand ohne Reaktion eine intratracheale Injektion von $\frac{1}{2}$ ccm, eine andere 2 ccm intraperitoneal. Bei einer dritten stellten sich nach 2 ccm intravenös Durchfälle ein, das Tier wurde matt, doch erholte es sich im Laufe einer Woche wieder vollkommen. Erst 10 ccm intraperitoneal tötete innerhalb 18 Stunden.

Die pathologischen Erscheinungen bei Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen sind die üblichen, d. h. alle Lymphdrüsen sind hochgradig hämorrhagisch und geschwollen und auch sonst finden sich, bei den einzelnen Tieren nicht immer an gleichen Organen, zahlreiche Blutergüsse. Besonders scheinen die Schleimhäute des Darmes bevorzugt zu sein, doch sind auch Hämorrhagien in der Leber, der Niere, Nebenniere und den Lungen, in letzteren in 2 Fällen bei Meerschweinchen hämorrhagische Pneumonien, beobachtet worden. Abgetötete Kulturen wirken meist, aber nicht immer in Dosen von 2 ccm deletär auf Kaninchen. Die Erscheinungen waren dieselben wie bei Impfung mit lebender Kultur. Es ist selbstverständlich, daß die kulturelle Herzblutprüfung stets das Frei-sein von Bakterien ergeben hat.

Fasse ich zusammen, so ist bei einer hämorrhagischen Pneumonie eines Tigers ein Mikrobe gefunden worden, den wir nach seinem Fundort *Bacillus pneumoniae tigris* nennen wollen, der anfangs sehr große Uebereinstimmung mit dem Influenzabacillus zeigte. Er war wie dieser sehr klein, gramnegativ, zeigte Polfärbung, allerdings vielleicht ausgesprochener, d. h. nicht im Originalpräparat, sondern später aus den Versuchstieren, wie dieser, und war absolut hämophil. Diese Eigenschaft verlor er nach wenigen Generationen und konnte nun auf Grund seiner Morphologie, seines kulturellen Verhaltens und seiner Tierpathogenität ohne weiteres der Gruppe der Pasteurellen eingereiht werden. Daß ein solches Verhalten, erst hämophil, dann auf gewöhnlichem Nährboden wachsend, keineswegs ein Novum ist, beweist schon die Arbeit von A. Wolff¹⁾ aus dem Pfeifferschen Institut. Und dieser Fall beweist auch wieder, was Wolff schon sagte, daß man doch stets beim Suchen nach neuen Krankheitserregern daran denken müsse, daß

1) Wolff, A., Ueber einen beim Tier gefundenen influenzaähnlichen Bacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXIII. 1903. p. 407 ff.)

dieser hämophil sein könne, und daß man es nicht versäumen dürfte, danach sein Verhalten einzurichten. Wenn nun so der *Bacillus pneumoniae tigris* auch seine Hämophilie in bezug auf die Wachstumsmöglichkeit verlor, so behielt er sie doch dauernd in bezug auf seine Widerstandsfähigkeit bei.

Ich möchte aber bei dieser Gelegenheit die Frage streifen, ob das Auffinden solcher Bakterien mit gewissermaßen atypischen Eigenschaften, die auf eine andere Gruppe hinweisen, nicht Bausteine sein können und müssen für die Erkenntnis des phylogenetischen Zusammenhanges der Bakterienarten. Ich möchte hier nur erwähnen, daß in sehr vielen Influenzafällen, nicht in allen, die Polfärbung der Influenzabacillen eine wirklich hervorragende ist, und daß wir gerade in der letzten Influenzaepidemie wieder so überaus häufig, besonders am Trommelfell und Mittelohr, die Neigung, wenigstens mancher Influenzastämme, für das Erzeugen von Hämorrhagien haben sehen können.

Ich möchte aber auch die Aufmerksamkeit der Fachkollegen mit dieser Mitteilung auf das viele und noch zum großen Teil unbearbeitete Material in den Zoologischen Gärten hinlenken. Wenn auch die Erforschung der hier auftretenden Infektionskrankheiten meist keinen therapeutischen Erfolg haben kann, wenigstens wenn es sich um Raubtiere handelt, so wird sie doch für die Prophylaxe in manchen Fällen von großem Nutzen sein.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, der Direktion des Frankfurter Zoologischen Gartens, ganz besonders Herrn Direktor Dr. Priemel, für die mir in diesem Falle sowie stets gegebene Möglichkeit, die Infektionskrankheiten der Tiere des Gartens zu studieren, meinen verbindlichsten Dank zu sagen.

Nachdruck verboten.

Zur Erleichterung der Meningokokkendiagnose.

Von Marine-Generaloberarzt Prof. Dr. **Reinhold Ruge**.

Jeder, der öfters Lumbalflüssigkeit von Kranken untersucht hat, die klinisch an den Symptomen der Genickstarre leiden, weiß, daß es nicht immer gelingt, mikroskopisch die Meningokokken nachzuweisen, auch wenn die klinischen Erscheinungen der Genickstarre deutlich ausgesprochen sind. In einem großen Laboratorium hat nun so ein negativer mikroskopischer Befund nichts auf sich. Die Untersuchung wird eben dann kulturell gemacht. Ungünstiger liegen die Verhältnisse da, wo die Einrichtungen zur kulturellen Untersuchung fehlen.

Man kann sich da in folgender Weise helfen:

Man bringt auf einige Objektträger, die in der Flamme abgebrannt sind, je 6—8 Tropfen (also etwa 0,3—0,4 ccm) von der Lumbalflüssigkeit, legt jeden Objektträger einzeln unter eine Petri-Schale und läßt die Lumbalflüssigkeit bei Zimmertemperatur eintrocknen. Das Eintrocknen nimmt etwa 10—12 Stunden in Anspruch. Während dieser Zeit findet aber eine derartige Anreicherung etwa vorhandener Meningokokken statt, daß sie jetzt mikroskopisch nachweisbar sind. Eine gleiche Anreicherung beobachtete ich bei Streptokokken.

Nachdruck verboten.

Ueber Varietäten des abgeschwächten Milzbrandvirus.

[Aus dem bakteriologischen Institut der Universität Budapest.]

Vorläufige Mitteilung.

Von Prof. Dr. H. Preisz.

In einer Mitteilung, erschienen im XLIV. Bande dieser Zeitschrift, berichtete ich, daß die Virulenz des Milzbrandbacillus engstens zusammenhängt mit dessen Fähigkeit, Kapseln zu bilden. Diese Fähigkeit ist bei der Abschwächung des Bacillus gewissen Veränderungen unterworfen und geht endlich völlig verloren; damit ist aber auch die Virulenz geschwunden. Auch berührte ich das verschiedene Verhalten solcher abgeschwächter Bacillen auf Agar-Agar, welches sich daraus ergibt, daß die Kapselbildung sich mehr oder minder rasch einstellt und verschiedentlich abläuft oder aber gänzlich fehlt.

Nun ist dieses Verhalten sehr augenfällig und zur Isolierung verschiedener Bacillenvarietäten geeignet. Man kann beim Vergleich mit den Kolonien des normalen (vollvirulenten) Bacillus, die von grobgestrichelter Struktur, rauher Oberfläche und am Rande mit Ausläufern versehen sind, bis zu den ganz avirulenten Varietäten, die homogen weißlich aussehen, glatt an den Rändern und an der Oberfläche sind, die verschiedensten Varietäten beobachten, auf deren kulturelle Eigenschaften ich vorläufig nur mit ihren Benennungen (derer ich mich bediente) hinweisen möchte. Solche sind:

Varietas striato-mucosa solida,
 " " " mollis,
 " mucosa,
 " " confluens,
 " homogenes alba,
 " homogenes livida.

Wird ein vollvirulenter Stamm bei höheren Temperaturen abgeschwächt, so zeigt sich die überraschende Tatsache, daß nach einer gewissen Zeit aus ein und derselben Kultur die verschiedensten Varietäten entstanden sind, die auch ihrer Virulenz nach höchst verschieden sind. Ein Beispiel möge dies veranschaulichen.

Aus einer abgeschwächten Kultur ließen sich folgende Varietäten züchten:

Varietas	+ (= tötet) — (= tötet nicht)			
	Schaf	Kaninchen	Meerschweinchen	Maus
striata 1 (nahezu normal)	+	+	+	+
striata 2	—	—	+	+
mucosa	—	—	—	—
homogenes alba	—	—	—	—

In ein und derselben, eine zeitlang der Abschwächung unterworfenen Kultur finden sich sonach stark virulente und gänzlich avirulente Keime nebeneinander.

Die Fähigkeit der Sporenbildung kann unabhängig von dem Grade der Virulenz entweder erhalten bleiben oder aber mehr oder minder, zuweilen gänzlich schwinden. Letzteres kann gerade bei der virulentesten Varietät geschehen.

Ein solches Gemisch verschiedener Varietäten ist von unverlässlicher, in seinen Fortzüchtungen sehr veränderlicher Virulenz. Wird eine Kultur von solchen Varietätengemischen älter, so können zufolge mangels der Sporulation gerade die virulentesten Varietäten aussterben, wodurch die Kultur und ihre weiteren Generationen schwächer oder gänzlich unwirksam werden.

Um möglichst gleichmäßig wirksame Kulturen des abgeschwächten Milzbrandbacillus zu erhalten, müssen aus den abgeschwächten Kulturen die verschiedenen Varietäten kulturell gesondert und einzeln auf ihre Virulenz und Sporulationsfähigkeit geprüft werden.

Nur durch Reinzüchtung der Varietäten lassen sich Impfstoffe von gleichmäßiger Wirkung erhalten.

So wie die Virulenz seitens des Bacillus auf jenem Schutze beruht, den die Kapsel dem Bacillus gegenüber den Wehrkräften des tierischen Organismus gewährt und so wie ferner der avirulente Bacillus zufolge mangels der Kapselbildung auch im sonst gegen Milzbrand empfänglichen tierischen Körper bald zugrunde geht, so ist die Abnahme der Virulenz durch eine quantitative und qualitative Modifizierung der Kapselbildung bedingt.

Nachdruck verboten.

Ist der Bacillus suipestifer der Erreger der Schweinepest oder nicht?

Von Stabsarzt Dr. Hübener, Berlin.

Von amerikanischen Forschern (1) war zunächst nur für die amerikanische Hogcholera festgestellt, daß die Ursache dieser Seuche nicht der Hogcholerabacillus, sondern ein ultravisibles filtrierbares Agens ist. Man glaubte anfangs, daß diese neue Entdeckung nur für die amerikanische Seuche zutrefte und daß letztere als eine besondere Form der Schweinepest bzw. als eine selbständige Krankheit von der eigentlichen, durch den *B. suipestifer* hervorgerufenen Schweinepest abzutrennen und anders zu benennen sei (Ostertag, Joest, Koske). Durch die in den letzten Jahren in verschiedenen Ländern aufgenommenen Untersuchungen und Nachprüfungen konnten jedoch die Befunde der Amerikaner allenthalben bestätigt werden. So gelang es Theiler (2) bereits im Jahre 1905 in Afrika durch Impfung mit Material von schweinepestkranken Schweinen, das allerdings nicht filtriert war, das sich aber bei einfacher kultureller Untersuchung als keimfrei erwiesen hatte und Schweinen entstammte, bei denen der *B. suipestifer* nicht gefunden worden war, wiederum das Bild der in Afrika herrschenden Schweinepest zu erzeugen. Desgleichen vermochte Hutyrá (3) in Ungarn durch Verimpfung bakterienfreien filtrierten Bluts und Blutserums pestkranker Schweine eine akute hämorrhagische Septikämie bei den geimpften Schweinen hervorzubringen, wobei er mitunter auch Schwellung und Verschwärung der solitären Follikel, sowie in einem Falle auch eine

streifenförmige oberflächliche Nekrose der Schleimhaut des Grimmdarms beobachtete. In England wurden im Boardslaboratorium (4) die Angaben der Amerikaner mit Material von swinefever aus verschiedenen Teilen des Landes nachgeprüft und richtig befunden.

In Deutschland konnten die Befunde zunächst durch Ostertag und Stadie (5) im Hygienischen Institut der Tierärztlichen Hochschule in Berlin, sodann durch Uhlenhuth, Hübener, Xylander und Bohtz (6) im Kaiserlichen Gesundheitsamt und später durch Wassermann (7) im Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin bestätigt werden. Und auch in Frankreich führten die im letzten Jahre von Carré, Lechlainche und Vallée (8) ausgeführten Versuche zu dem gleichen Ergebnis. Trotzdem hat es nicht an Stimmen gefehlt, welche öffentlich in der Fachpresse und inoffiziell im privaten Meinungsaustausch die Richtigkeit der Befunde der Amerikaner und der stattgehabten Nachprüfungen bezweifelten.

Von Lourens (9), Unterdirektor im Reichsseruminstitut zu Rotterdam, ist gegen die Richtigkeit der Annahme eines ultramikroskopischen, bakteriendichte Filter passierenden Erregers der Schweinepest ins Feld geführt worden, daß der Schweinepestbacillus „unter bestimmten Umständen“ durch einen aus nicht verglastem Porzellan oder aus Infusorien-erde angefertigten Filter gehen kann, daß diese Fähigkeit in engem Zusammenhang mit seiner Eigenschaft, in Körner zu zerfallen, steht, daß von keinem Untersucher der überzeugende Beweis geliefert worden ist, daß sich in den von ihnen benutzten Filtraten wirklich keine Pestbacillen befanden.

Die Schwierigkeit der Gewinnung bakterienfreier Filtrate muß ohne weiteres zugegeben werden, ebenso die des überzeugenden Nachweises der absoluten Keimfreiheit derselben, aber Beides liegt doch im Bereich der Möglichkeit, wovon sich Lourens selbst hat überzeugen können. Ihm ist es in dem einem Falle gelungen, mit Serumfiltrat, das von ihm selbst geprüft und keimfrei befunden worden war, wieder Schweinepest zu erzeugen. Da sich in den Organen des mit diesem keimfreien Serumfiltrat geimpften Ferkels Schweinepestbacillen befanden, so schließt Lourens, daß sie von ihm mit eingespritzt worden sein müssen, obwohl sie in der Injektionsflüssigkeit nicht nachweisbar waren. Wäre Lourens durch diese Beobachtung zur Anstellung einer größeren Versuchsreihe mit Serumfiltraten bewegt worden, so würde er sicherlich noch mehrfach das scheinbar widersprechende Ergebnis haben beobachten können. Die Tatsache des so häufigen Befundes der Schweinepestbacillen in den Organen der durch keimfreies Serumfiltrat krank gewordenen Schweine hätten ihm ungezwungen die auch im Reichsseruminstitut (10) erhobenen Befunde des Vorkommens von Schweinepestbacillen im Darm gesunder Schweine (Uhlenhuth, Hübener etc.) erklären können.

Es ist zweifellos richtig, daß die Gewinnung keimfreien Impfstoffes der Schweinepest durch Filtration schwierig ist und Zweiflern einen gewissen Spielraum läßt. Uhlenhuth (11) und seine Mitarbeiter sind daher unablässig bemüht gewesen, auf andere Weise den unumstößlichen Beweis der absoluten Keimfreiheit der zur Verimpfung gelangenden Filtrate zu erbringen und haben bei der Prüfung der Desinfektionsmittel in dem Antiformin, einer Lösung von Alkalihydrazid und Alkalihypochlorid, ein Mittel gefunden, welches mit absoluter Sicherheit in 2,5-proz. Lösung zu unverdünnten, künstlich mit Hogcholera-bacillen infizierten Serumfiltraten hinzugesetzt, nach 30–40 Minuten

Schweinepestbakterien abtötet, indem es dieselben wie Zucker in Wasser auflöst, während die spezifisch krankmachende Wirkung der von schweinepestkranken Schweinen stammenden Serumfiltrate durch die Einwirkung des Antiformins in gleicher Konzentration bei gleicher Einwirkungsdauer erst nach ca. 2 Stunden verloren geht. Ueber die wunderbare bakterienlösende Eigenschaft dieses Mittels, die Uhlenhuth (12) zuerst erkannt hat, ist von ihm selbst in der militärärztlichen Gesellschaft am 19. März 1908 und der freien Vereinigung für Mikrobiologie am 9. Juni d. Js. berichtet worden¹⁾. Eine ausführliche Beschreibung der kurz mitgeteilten Versuche wird in den Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamt erfolgen. Erwähnt sei nur, daß auch andere Desinfektionsmittel — z. B. Karbol und Sublimat — bei entsprechend abgeänderter Versuchsanordnung die gleiche Wirkung entfalten. Es ist damit jeder subjektiven Beurteilung der zur Verimpfung gelangenden Serumfiltrate bezüglich ihrer Keimfreiheit der Boden entzogen und die Möglichkeit der Anwendung einer objektiv arbeitenden Methode gegeben. Es kann daher mit aller Bestimmtheit ausgesprochen werden, daß es möglich ist, mit absolut bakterienfreiem Serumfiltrat natürlich schweinepestkranker Schweine, wieder die Schweinepest zu erzeugen. Damit ist nun nicht gesagt, daß in dem Filtrat ein belebtes Virus enthalten sein muß. Die Wirkung des Serums könnte sehr wohl eine Giftwirkung sein, und in der Tat ist ein ähnlicher Standpunkt von Schreiber (13), der eine Aggressinwirkung annimmt, vertreten und eingehend verteidigt worden. Er bezweifelt durchaus nicht die Tatsache, daß es gelingt, mit filtriertem Blut oder Organextrakt wieder Schweinepest zu erzeugen, er sieht aber in dem filtrierbaren Virus nichts anderes, als das in Wechselwirkung mit dem Organismus von dem *B. suipestifer* gebildete Toxin, welches als sogenanntes Aggressin im Sinne Bails infektionsbefördernd wirkt und den Schweinepestbacillus, der wie der Rotlaufbacillus ein häufiger Bewohner des Schweins ist, mobilisiert. Von Ostertag und Stadie (5), sowie von Uhlenhuth (6) und seinen Mitarbeitern sind bereits die Gründe dargelegt worden, welche gegen die Schreibersche Annahme sprechen. Es kann diesen noch hinzugefügt werden, daß in dem Antiformin ein Mittel gefunden worden ist, welches nicht nur die lebende Bakterienzelle auflöst und unschädlich macht, sondern auch Bakterientoxine, speziell das *Suipestifer*-Toxin zerstört, wovon man sich leicht durch Experimente überzeugen kann. Wenn nun also Serumfiltrate, Blutlösungen oder Organextrakte, auf die Antiformin in bestimmtem Lösungsverhältnis und entsprechend lange eingewirkt hat, die also sicherlich keinen Schweinepestbacillus und sicherlich auch nicht sein Toxin enthalten können, dennoch bei der Injektion auf gesunde Schweine Schweinepest hervorrufen, so bleibt doch nichts anderes übrig, als diese Wirkung auf einen unbekannten, dem *Bac. suipestifer* an Resistenz überlegenen Erreger oder das Gift eines solchen zurückzuführen. Gegen die letztere Annahme spricht die große Kontagiosität der mit bakterienfreiem Material erzeugten Krankheit und die Möglichkeit mittelst solchen Impfmateriels durch Generationen hindurch immer wieder die Krankheit hervorzurufen, sowie die toxinvernichtende Eigenschaft des Antiformins, so daß sich also aus den Versuchen notgedrungen die Annahme eines filtrierbaren belebten Agens als des ätiologischen Faktors der Schweinepest und der sekundären Rolle des *B. suipestifer* bei dieser Krankheit ergibt.

1) Berl. klin. Wochenschr. 1908. No. 29.

Daß letzterer sekundär auf den Verlauf und Ausgang der Schweinepest einen bedeutenden Einfluß hat, soll nicht nur nicht geleugnet, sondern mit Nachdruck hervorgehoben werden. Daß er für den Erreger der Schweinepest gehalten worden ist, darf bei seinem häufigen Vorkommen in den Organen schweinepestkranker Schweine und seiner Eigenschaft nach intravenöser oder stomachaler Einverleibung eine der Schweinepest in klinischer und anatomisch-pathologischer Beziehung gleichende Krankheit zu erzeugen, wahrlich keine Verwunderung hervorrufen.

Doch handelt es sich bei dieser experimentellen Infektion um eine, den Symptomen nach der Schweinepest ähnliche, dem Wesen nach von ihr verschiedene Krankheit, was aus folgenden Tatsachen hervorgehen dürfte:

- 1) Die durch Einverleibung von *Suispestifer*-Kulturen hervorgerufene Krankheit ist im Vergleich zur natürlichen Seuche kaum kontagiös;
- 2) filtriertes Blutserum der durch Kulturen infizierten Schweine ist nicht infektiös;
- 3) nach Ueberstehen der künstlich mit Bacillen hervorgerufenen Krankheit tritt keine Immunität gegen die natürliche Infektion ein.

Nun ist die Erzeugung dieser „Pseudoschweinepest“ keineswegs eine spezifische Eigenschaft des *B. suispestifer*. Die gleichen Veränderungen können, wie Uhlenhuth (11) und seine Mitarbeiter dargetan haben, auch durch *B. enteritidis* Gärtner, *Coli*-Bakterien und durch abgetötete Kulturen des *Suispestifer* erzeugt werden, so daß letzterer also auch in dieser Beziehung seiner Spezifität entkleidet die so auffällige für Lourens und Glässer (14), der hinsichtlich der Aetiologie der Schweinepest auf dem Standpunkt von Lourens steht, unverständliche Uebereinstimmung der Symptomatologie und Pathologie beider Krankheiten dem Verständnis näher gebracht ist. Auf die von letzterem Autor gegen die Filtrierbarkeit des Ansteckungsstoffs der Schweinepest vorgebrachten Gründe näher einzugehen, dürfte sich erübrigen. Sie basieren im ganzen auf 6 Versuchen, von denen nur 2 mit Filtraten schweinepestkranker Tiere angestellt sind, im übrigen auf wissenschaftlicher Spekulation.

Ob den 4 Filtratversuchen von Lourens und den 2 Versuchen von Glässer oder den Hunderten und Aberhunderten (9) an 7 verschiedenen Instituten der Welt mit gleichem Ergebnis angestellten Versuchen mehr Gewicht beizumessen ist, muß dem einzelnen überlassen werden. Es ist an dieser Stelle absichtlich vermieden, auf alle anderen Gründe, die gegen den *B. suispestifer* und für die Annahme eines anderen Erregers der Schweinepest sprechen, einzugehen. Wir verweisen in dieser Beziehung auf die Arbeiten von Uhlenhuth (6 u. 11) und seiner Mitarbeiter. Es kam nur darauf an, den immer wiederkehrenden, auf Verkenennung der Verhältnisse beruhenden Einwand des mangelnden Beweises der Keimfreiheit und der zur Verimpfung gelangten Filtrate zurückzuweisen.

Literaturverzeichnis.

- 1) Dorset, Bolton and Mc. Bryde. The etiology of Hog-cholera. (Biochemic Division Bureau of animal Industry. Bulletin No. 2. 1905.)
- 2) Theiler, Die Schweinepest und die Schweineseuche in Südafrika. (Fortschritte der Veterinärhygiene. Heft 6. 1906.)
- 3) Hutyra, Zur Aetiologie der Schweinepest und Schweineseuche. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1906. No. 32.)

- 4) Board of Agriculture and Fisheries. (Annual Reports of Proceedings under the diseases of animal acts ect. for the year 1905.)
- 5) Ostertag und Stadie, Weitere Untersuchungen über die Filtrierbarkeit des Virus der Schweineseuche und Schweinepest. (Zeitschr. f. Inf. etc. der Haustiere. Bd. II. 1907. Heft 203.)
- 6) Uhlenhuth, Hübener, Xylander, Bohtz, Untersuchungen über das Wesen und die Bekämpfung der Schweinepest. (Arb. aus dem Kaiserl. Gesundh.-Amt. Bd. XXVII. Heft 3.)
- 7) Wassermann, Mitteilungen der Vereinigung deutscher Schweinezüchter. 1908. No. 7.
- 8) Carré, Lechlainche, Vallé, Revue générale de medecine vétérinaire. 1 Mars 1908.
- 9) Lourens, Untersuchungen über die Filtrierbarkeit der Schweinepestbacillen. (Centralbl. f. Bakt. 1907.)
- 10) Veelzen, Ueber das Vorkommen pathogener Mikroorganismen bei gesunden Schweinen. (Centralbl. f. Bakt. Referate. Bd. XL. p. 802.)
- 11) Uhlenhuth und Hübener, Weitere Mitteilungen über Schweinepest. (Sitzung d. Gesellschaft f. Mikrobiologie. 13. Juni 1908.)
- 12) Uhlenhuth, Deutsch. Milit. Zeitschr. 1908. Heft 7.
- 13) Schreiber, Zur Aetiologie der Schweinepest. (Berl. tierärztl. Wochenschr. Bd. XVIII. 1907.)
- 14) Glässer, Studie über die Aetiologie der deutschen Schweinepest. (Deutsch. Tierärztl. Zeitschr. Bd. XLII. 1907.)

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhalten der Gelenkhöhle normaler und immunisierter Tiere bei Impfung mit Mikroorganismen.

[Aus dem Florentiner Institut für pathol. Anatomie (Prof. G. Banti).]

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. Antonio Comolli.

Ich führe hier kurz die Untersuchungen an, die ich unternommen habe, um vorhandene Verschiedenheiten im Verhalten der Gelenkhöhle im normalen und immunen Zustande den Mikroorganismen gegenüber, zu prüfen. Ich behalte mir jedoch vor, später eine genauere Beschreibung der Untersuchungen selbst zu geben.

Es ist bekannt, wie eine Frage bestand und noch besteht, ob die Synovialmembran, welche die Gelenkhöhle bekleidet, eine seröse Membran sei, und wie dieser Begriff von den neuen histologischen Untersuchungen vollständig verworfen wurde und man der Höhle selbst die Eigenschaft einer konnektivalen Lücke zuschreibt, wie es die Embryologie im übrigen bestätigt.

Ebenfalls ist bekannt, daß die wirklich serösen Höhlen, wie die peritoneale, sich zum Schutz gegen einige pathogene Mikroorganismen, wie die Choleravibrionen und Typhusbacillen, auf verschiedene Art in normalen Verhältnissen oder in der Immunität verhalten, da die Zerstörung der Mikroorganismen im ersteren Falle durch Phagocytose, im zweiten durch Bakteriolyse eintritt. Die zu diesem Zwecke angestellten Versuche, im Unterhautzellgewebe wiederholt, haben dagegen immer zur Phagocytose, sowohl in dem einen wie in dem anderen Falle, geführt.

Der Hauptzweck meiner Untersuchungen war, Beobachtungen darüber anzustellen, was unter den beiden erwähnten Bedingungen geschieht; in zweiter Linie beschäftigt sich meine Arbeit mit der Ausscheidung der

Mikroorganismen aus der Gelenkhöhle sowie der Widerstandsfähigkeit von Tieren bei der endoartikulären Impfung der Mikroorganismen.

Die Tiere, deren ich mich bediente, waren Meerschweinchen; das Gelenk war das Knie, da dieses am besten dazu geeignet erscheint. Die Mikroorganismen waren meistens Typhusbacillen. Der Stoff wurde mittels einer Pravazschen Spritze mit sehr feiner Nadel eingeführt in Form von Kulturen in Nährbouillon oder Nähragar, aufgelöst mit 0,8-proz. NaCl-Lösung. Die Prüfung der endoartikulären, durch Kapillarglas aufgesogenen Flüssigkeit wurde im hängenden Tropfen gemacht, wie auch trocken im Ausstrich unter Anwendung verschiedener Färbungsmethoden.

In allen Untersuchungen habe ich als Vergleichspunkt die peritoneale Höhle und das Verhalten derselben beibehalten, indem ich gleichzeitig mit den Versuchen in den Gelenken andere Vergleichsversuche in dem Peritoneum machte.

Bei der ersten Untersuchungsreihe, die gemacht wurde, um das Verhalten der Gelenke bei normalen Tieren zu untersuchen, habe ich sehen können, wie die Mikroorganismen (*Bacillus typhi*, *Staphylococcus pyogenes aureus*), welche in großer Menge in die Gelenke eingeführt wurden, keine Neigung zur Verklumpung zeigen und wie ihre Beweglichkeit einige Stunden dauert. Die Zerstörung derselben geschieht durch Phagocytose seitens der polynukleären Leukocyten; diese beginnt 1 Stunde nach der Impfung, erreicht ihren Höhepunkt nach 2—4 Stunden und endet nach 7—8 Stunden.

Die zweite Untersuchungsreihe bestand in der mikroskopischen Prüfung der gefärbten Schnitte von Gelenken der Meerschweinchen, in die ich Mikroorganismen (*Staphylococcus pyogenes aureus*) eingespritzt hatte. Zu diesem Zwecke waren die Gelenke in toto eingebettet worden. Die subinguinalen Lymphdrüsen und die lumbare Lymphdrüse wurden ebenfalls untersucht. In diesen Schnitten beobachtet man, wie die Mikroorganismen aus der Gelenkhöhle zum Teil frei, zum Teil phagocytiert ausgeschieden werden. Sie gehen durch die Synovialmembran, und zwar gerade durch ihre Ausbuchtungen, laufen dann längs dem Schenkel wahrscheinlich durch die tiefen lymphatischen Zwischenräume, um in der lumbaren Lymphdrüse zu enden. Ihre Aufsaugung beginnt gleich nach dem Einimpfen. Manche bleiben frei in der Gelenkhöhle, einige wenige andere werden durch die Zellen der Synovialmembran phagocytiert.

Was die Widerstandsfähigkeit der normalen Tiere betrifft gegenüber den in die Gelenkhöhle eingeführten Mikroorganismen, so lassen mich die immer im Gegensatz zum Peritoneum gemachten Untersuchungen glauben, daß eine etwas größere Menge von Mikroorganismen (*Bacillus typhi*, *Bacillus coli commune*) nötig sind, um das Tier zu töten, als auf endoperitonealem Wege.

Bei vorher immunisierten Tieren und bei solchen, denen Typhusbacillen in die Gelenkhöhle eingespritzt worden waren, endlich bei normalen Tieren, denen zu gleicher Zeit mit den Mikroorganismen Serum von immunisierten Tieren injiziert wurde, das im Peritoneum sicher Bakteriolyse auslöste und dann in einem bestimmten Prozentsatz verdünnt angewandt wurde, erlangte ich keine Bakteriolyse, sondern Phagocytose, mit demselben Verhalten, wie man es ungefähr in den Gelenkhöhlen normaler Tiere findet, und zwar ohne Zusatz von Serum.

Dagegen fand ich eine Neigung zur Verklumpung der Mikroorganismen und eine frühe Unbeweglichkeit derselben.

Die Gelenkhöhle verhält sich also nicht, was die Mikroorganismen anbetrifft, wie eine seröse Höhle, sondern wie das Unterhautzellgewebe.

Florenz, 1. Juli 1908.

Nachdruck verboten.

Infectious Jaundice due to *Piroplasma commune*¹⁾.

[Laboratories of Pathology and Bacteriology Ohio State University,
Columbus, Ohio.]

By **James McIlvaine Phillips** and **Eugene Franklin McCampbell**.

With 1 plate and 4 figures.

History of epizootic studied in present paper.

This epizootic was observed in a small kennel of Cocker Spaniels. The first animal to become ill was a bitch (bitch A), which gave birth to five puppies (litter A), on the 12th day of June, two days before she was due to whelp. The next morning she was apathetic, refused to eat and seemed quite sick. During the night she had vomited. All food which was forced down her throat was immediately vomited. The vomitus contained blood. The stools were very foul and of a tarry color and consistency. Three days after whelping, icterus of the mucous membrane was first noted, which increased until the entire skin and all the mucous membranes were saffron. Her milk was yellow. Great muscular weakness developed, especially in the hind legs. For the first two days she was quite thirsty but later refused to drink. Her early temperature was very high, but about the sixth day of the disease it became subnormal. Emaciation was very rapid and the eyes were soon markedly sunken. Death occurred on the tenth day. A necropsy was not obtained on this case.

On the sixth day of the bitch's illness a foster mother was secured for her puppies which had been with her until this time. After the death of bitch A the foster mother and the puppies were placed in her kennel, which had since been disinfected with fire. The kennel run, however, had not been thoroughly disinfected.

Ten days later (June 22nd) another bitch (bitch B) whelped seven puppies (litter B) in an adjoining division of the kennel which had been used during the winter by the old dogs. Both the bitch and her puppies remained in good condition until early in July, when an eight weeks' old puppy from another source (litter C) was brought into the kennel, and placed with the puppies of litter A. This puppy immediately developed a mild form of distemper and later recovered. All the puppies of litter A contracted the disease and all except one died.

Sixty-five days having elapsed after the illness of bitch A, there was no more evidence of disease in the kennel. Then the puppy from litter C and the sole survivor of litter A became sick and began to show hematemesis, hematuria and malena. Within twenty-four hours

1) Preliminary communication.

their eyes were sunken, they were emaciated and the mucous membranes of their mouths were dead white in color. Muscular weakness, especially of their hind legs, was very manifest. The third day of the disease a marked icterus developed and the puppies were chloroformed. On the 2nd, 4th and 5th days after, all the remaining puppies (the six of litter B) became sick and showed similar symptoms. In this litter the first symptom noticed was vomiting. These puppies were immediately removed to the University laboratories and placed in one of the pens for experimental animals and a five months' old puppy from another place was put in with them. In four days all but one of the sick puppies were dead, having shown the symptoms noted in the others. Any effort to force food into the mouths of these puppies was resisted, and resulted in the immediate vomiting of the food, mixed with blood. The passage of the liquid, black and tarry stools was associated with tenesmus. From the very beginning each puppy was treated with two (2) grains of methylene blue three times daily. This apparently had no effect upon the disease.

At the time the outbreak appeared among the puppies of litter A, all of the adult dogs in the kennel were not in good physical condition. An examination of their mucous membranes showed them to be very anemic. Their skins were covered with erythematous patches, somewhat similar in appearance to those seen of the early stages of demodectic scabies, but no parasites could be found in scrapings from these areas. The stools of these dogs contained large numbers of *uncinaria* ova. These dogs were given repeated doses of thymol and male fern and the kennel was repeatedly disinfected. The anemia persisted for about two months, when all had apparently recovered their usual good condition. The general appearance of the adult dogs was similar to that of all the old dogs which we later succeeded in infecting with the mild or chronic form of the disease by inoculations with infected blood.

Gross pathology.

All the tissues of the puppies show various grades of icterus varying from a barely perceptible yellow to a rather deep saffron. Every tissue of the body including the central nervous system is tinged. In the many of them the bladder contains dark red urine. In some puppies bladder is empty. In the puppies with the least icterus the bladder is filled apparently with normal urine. All show petechia, ecchymoses and vibrices in all the serous membranes. One specimen shows in addition a huge saggulation beneath the peritoneum on the entire dorsal surface of the abdominal cavity. A little yellow serous fluid is found in the pleura and the pericardium. The lungs contain many hemorrhages extending well into the pulmonary tissue and of about the size of a bird shot. The myocardium is pale and friable and the endocardium stained diffusely red. The blood clots quickly after it escapes from the vessels.

The pulmonary lymph nodes are enlarged and hemorrhagic, and this condition is also found in practically all the lymph nodes of the body.

The liver is enlarged with well rounded edges in some of the carcasses, while in the others it is slightly smaller than in the normal. In the enlarged livers marked congestion and numerous areas of focal necrosis are evident. These livers are friable and mottled in places

with yellowish areas of fat. Smaller livers are of an ochre color, soft and flabby, and on pressure yield like putty. This appearance is most marked on the margins of the lobes. In both forms of change the livers are stained with bile and the gall bladders are invariably well filled with viscid bile.

The spleens are enlarged and are quite friable, the pulp being very dark in color.

The gross appearance of the kidneys is typical of cloudy swelling and fatty degeneration. In addition to these changes, subcapsular hemorrhages are seen. The stomachs are empty save for a little blood-stained mucous which in some instances has the color of coffee-grounds. Their mucous membranes are highly congested and numerous pin-point and larger hemorrhages can be seen in them.

The duodenum and upper part of the ileum in nearly every case harbors immense numbers of *Uncinaria stenocephalus*. The duodenum is usually the seat of an extensive hemorrhagic infiltration of its entire mucous membrane.

The rest of the small intestine contains much bloody mucous. The mucous membrane is everywhere dotted with minute hemorrhages. At irregular intervals, large hemorrhages of about the diameter of a pea occur. They are plainly visible from the peritoneal surface and extend well into the muscular coat. In a few cases the *Ascaris mystax* and *Taenia elliptica* are present.

In the large intestine the hemorrhages are confined to the apices of the longitudinal folds of the mucosa, giving it a curious striped appearance. All of the mesenteric lymph nodes are markedly enlarged and hemorrhagic.

Pathological histology.

The material studied was obtained from both the spontaneous cases and those produced by inoculation of infected blood. The tissue was hardened in Orth's or Zenker's fluid, and stained with either hematoxylin and eosin or eosin and methylene blue.

Liver:

The liver shows diffuse, more or less circumscribed, areas of necrosis, especially marked beneath its capsule, in which the cells are swollen, their boundaries almost lost, and their nuclei unstained. In some places in these areas the nuclei of the endothelial cells of the capillaries are intact, in others they have disappeared. At this point the capillaries are greatly congested.

Scattered throughout the interior of the organ, many focal necroses appear as small, sharply circumscribed areas in which no liver cell nuclei are visible or in which there are deeply staining irregular masses of chromatin. The liver cells in these areas are swollen and almost homogenous, and their cytoplasm is far more transparent than normal. In some of these areas the capillary spaces persist and are filled with more or less disintegrated red blood corpuscles and large mononuclear cells which show evidence of degeneration. In others none of these cells can be seen in the capillaries. Most of these areas are close to an intralobular vein. No leucocytic infiltration of the necrotic areas is found. Most of the hepatic cells show fatty degeneration in varying degrees in the specimens from different animals. "Dissociation" of the columns of liver cells is almost universal. The leucocytes seem to be

more abundant than normal in the hepatic capillaries. In some hepatic cells, especially those in the outer part of the lobules, a slight icteric discoloration is manifest, but no iron-containing pigments can be demonstrated in them.

The interlobular veins are markedly congested, and occasionally contain thrombi, in which numerous very large mononuclear cells are seen. No changes are evident in their endothelium. The cells of the hepatic ducts have not proliferated, but their epithelium is decidedly cloudy. Many of the ducts are greatly distended with a slightly bile stained material which gives the staining reactions of mucin. In one liver many small rhombic crystals of hemotoidin were found among the hepatic cells. In many places the interlobular connective tissue shows a rather marked infiltration of lymphoid and plasma cells.

Kidney:

The medullary portion of the kidneys shows congested capillaries and swollen, necrotic epithelial cells lining its tubules. A number of the tubules seem to be but slightly changed, many of them contain degenerated cells filled with yellowish-brown pigment and some of them contain hyalin casts stained a diffuse greenish or yellow color.

In the cortex the necrotic and degenerative changes of the epithelial cells are more marked and granular masses of swollen and desquamated cells fill some of the tubules. A few hyalin and slightly bile stained casts are seen. The glomeruli are more cellular than usual and the interstitial tissue shows marked cellular infiltration between the tubules. These cells consist of plasma cells, leucocytes and large mononuclear cells resembling phagocytic cells but in none of these can inclusions be found. The capillaries are greatly congested, and diffuse capillary hemorrhages are frequently noted. Many small anemic infarcts are found in the cortical zone. Some of the tubules, in these otherwise homogenous necrotic areas, present a most curious color contrast when stained with eosin, owing to their very intense orange brown color. The cells in these tubules are swollen, their cytoplasm is granular, and their nuclei do not stain.

Lymph nodes:

The lymph nodes examined were the mesenteric, pulmonary and cervical. All are similarly affected. The most marked changes are found in the medullary lymph sinuses which are distended with large spherical mononuclear and apparently phagocytic cells. Their nuclei are vesicular, round or oval, and excentrically placed in a large amount of cytoplasm which is sharply defined and stains pink with eosin. Most of these cells contain from one to three erythrocytes and in many of them one to three lymphoid cells can be seen in addition. Some of these cells also contain polymorphonuclear leucocytes. The nuclei of these included cells stain very intensely and are often shrunken, indented, and irregular in shape, and in some cases fragmented. The origin of these cells we are unable to ascertain definitely, but they are very similar to those described by Mallory as seen in the mesenteric lymph nodes of man as a result of typhoid infection and which he considers to be undoubtedly of endothelial origin. These phagocytic cells have been repeatedly observed in normal lymph glands. The sinuses also contain many lymphoid and plasma cells and a few polymorphonuclear leucocytes.

Spleen:

The blood vessels and sinuses of the spleen are much congested and contain in addition to the red blood corpuscles and leucocytes, many large phagocytic cells similar to those seen in the lymph nodes. Nearly all of these contain from one to five red blood cells and polymorphonuclear leucocytes in various stages of disintegration. A much fewer number contain plasma and lymphoid cells. The phagocytic cells are very much increased over the normal for spleen and lymph glands.

The peculiar giant cells seen in the spleen of carnivora are unaltered, and the "Malpighian bodies" show little if any change. Occasional areas of necrosis, which never are very large, are found, in which the degenerating cells are surrounded by a meshwork of fibrin. Some of the splenic veins are occluded by thrombi composed largely of leucocytes and large mononuclear cells.

Intestines:

In the spontaneous cases the histological study of the intestine is very difficult as in all of our cases the changes had advanced to such a degree that the entire mucosa and much of the submucosa is densely hemorrhagic and necrotic. The submucosa contains a very large number of eosinophile cells, lymphoid and plasma cells. These cells are found also along the course of the lymphatics in the muscular coat and beneath the peritoneum, while many lymphoid and plasma cells with a comparatively smaller number of eosinophile cells are found between the fat cells of the mesentery near the intestine. We were able to determine a very limited number of phagocytic cells in these structures. We are not able to state which of these changes are due primarily to intestinal parasitism and which could be ascribed to the disease.

Nerve ganglia:

The plexiform ganglia of the pneumogastic nerve was examined in several cases. An appearance suggestive of the changes described by Van Gehuchten and Nelis in rabies is noted. The ganglion cells themselves and their nuclei, however, are unchanged, the endothelial lining of many of the spaces surrounding them is markedly proliferated, and the new endothelial cells press upon but do not enter the nerve cell. The surrounding tissues are much infiltrated with lymphoid and plasma cells.

Blood:

Examination of the blood of one of the mild cases which assumed the chronic form, seven days after invasion, showed 2,900,000 reds, 1,200 whites, hemoglobin 40 per cent. Another very acute case showed 3,000,000 reds, 1,500 whites, and hemoglobin 30 per cent. Differentiative counts made from smears of blood from the spontaneous cases show an average of large mononuclears 10 %, eosinophiles 6 %, lymphocytes 21 %, polymorphonuclears 60 %, and transitional forms 3 %.

Urine:

The urine of all the inoculated dogs, and from a number of those dying from the natural infection, was expressed from the bladder after death, collected as it poured from the urethra and examined.

In all cases in which the hemoglobin spectrum was present, red blood corpuscles were found in the urine (hematuria). About twenty-five per cent. of these cases show this condition after death, and almost all of them during life. In all cases the urine is loaded with albumen and bile, and contains many bile stained granular and hyalin casts and

some epithelial cells and leucocytes. In inoculated guinea pigs the same conditions are noted. No hemoglobinuria was observed.

Inoculation Experiments.

The infectiousness of the disease among the puppies in litters A and B was apparent. The examination of the blood of the dead animals by the ordinary bacteriological and histological methods revealed nothing. In order to find out whether or not the infecting agent was in the blood .5 ccm of the heart blood of Puppy 1 B was inoculated into the peritoneal cavity¹⁾ of two guinea pigs (Gp 1, Gp 2) (see Table of Inoculations of Animals). The heart blood (.5 ccm) of another puppy (P 2 B.) was inoculated into the peritoneal cavity of two other guinea pigs (Gp 3, Gp 4). All four of these guinea pigs became icteric and died in from six to eight days. They showed the same pathological changes noted in the puppies of Litters A and B and puppy C (see infra — Pathological Conditions — Gross and Histological). It may be stated here that P 1 B. died of a very rapid and virulent form of the disease while P 2 B. died of a rather mild form in which the pathological changes were not quite so well marked. On the death of the guinea pigs inoculated with the heart blood of P 1 B. and P 2 B. an attempt was made to obtain bacteriological cultures but without success. Stained slides revealed no micro-organisms. Guinea pigs (Gp 5, Gp 6) were then inoculated intraperitoneally with the hearts blood of Gp 2 and guinea pigs (Gp 7, Gp 8) inoculated in the same manner with the heart blood of Gp 4. These four guinea pigs died in seven to eight days showing the same characteristic pathological conditions before noted. Guinea pigs seven and eight (Gp 7, Gp 8) were unfortunately accidentally overlooked until they were well decomposed. No further experiments were made in passage with the strain of the infecting organism coming from P 2 B., attention being particularly directed to the more pathogenic strain coming from P 1 B. The accompanying table shows the exact inoculations made and we desire to call attention only to the important points. The blood of guinea pigs (Gp 5, Gp 6, Gp 9, Gp 10) was stained with the ordinary bacteriological stains and inoculations were made on the various culture medias in the hope that some bacterial parasite would be revealed. The results were negative as before. The blood of these guinea pigs was also stained by Marino's, Jenner's and Wright's stains but the slides showed no protozoan or other parasites.

The resemblance clinically of this disease to certain diseases in dogs called by some "canine malaria", "malignant malarial jaundice", "malignant jaundice", "biliary fever" etc., and known to be due to the *Piroplasma canis* (Piana and Galli-Valerio) had been noted from the first. All authorities so far agree that this disease can not be transmitted to any animals but canines.

Up to this point our experiments have shown conclusively that the infectious agent is in the blood. As yet we do not know where else in the body it occurs. Two possibilities were open since we were positive that the infection was not due to visible bacteria. These possibilities were first, that the disease was due to a protozoa, similar to the *Piroplasma bigeminum* (Smith and Kilborne) of Texas fever, which

1) Later experiments show subcutaneous inoculation to be equally fatal.

Table showing inoculations of animals. Piroplasma commune.

Pup 1 "B"

- {Gp 1 + {Gp 5 + {Gp 9 + (Gp 11 + K
 - {Gp 2 + {Gp 6 + {Gp 10 + {Gp 12 +
 - {Gp 18 (+)
 - Gp 19
 - Gp 13
 - Gp 14 +
 - D 17 +
 - Gp 15 C
 - Gp 16 C
 - D 23
 - D 24
 - C 22 + K ?
 - {Gp 20
 - R 25
 - {Gp 28 + K
 - {Gp 30
 - C 29
 - Gp 26
 - Gp 27
 - {Gp 18 +
 - Gp 34 +
 - Gp 33
 - R 39
 - C 32 (29)
 - D 31 + K
 - D 35
 - D 36
 - D 38
 - C 40 (29)
 - Co 41
 - H 42
 - {Gp 46 (30) (+)
 - Gp 47 (19) (+)
 - Gp 48 (27) (+)
 - Gp 49 (20) (+)
 - D 49
 - {Gp 50 +
 - Gp 51 +
 - D 51
 - Gp 52 +
 - Gp 53 +
 - D 54 +
 - D 56
 - D 57
 - C 55 (29)
 - {Gp 58 (15) (+)
 - Gp 59 (16) (+)
 - D 61 (58) + K
 - {Gp 60 (33)
 - {Gp 62
 - {Gp 63

Discontinued.
 Piroplasma found
 ? Piroplasma doubtful
 + K Killed
 (+) Died on being reinoculated
 C Control

Numerals indicate the serial number of inoculation
 Numerals in parenthesis () following serial number
 of inoculation shows animal has received more than
 one inoculation

Amounts of blood used for injection in experimental animals.

| | Intraperitoneal | Subcutaneous and Intravenous |
|-------------|-----------------|------------------------------|
| Guinea pigs | 0,1 ccm | 0,3 ccm |
| Rabbits | 1,0 " | 0,5 " |
| Dogs | 1,5 " | 1,0 " |
| Cats | 1,5 " | 1,0 " |
| Horse | | 1,5 " |
| Cow | | 1,5 " |

was very difficult to stain by ordinary methods or second, that it was due to an ultramicroscopic micro-organism. The similarity of the disease to certain known piroplasmoses made us favor the first possibility.

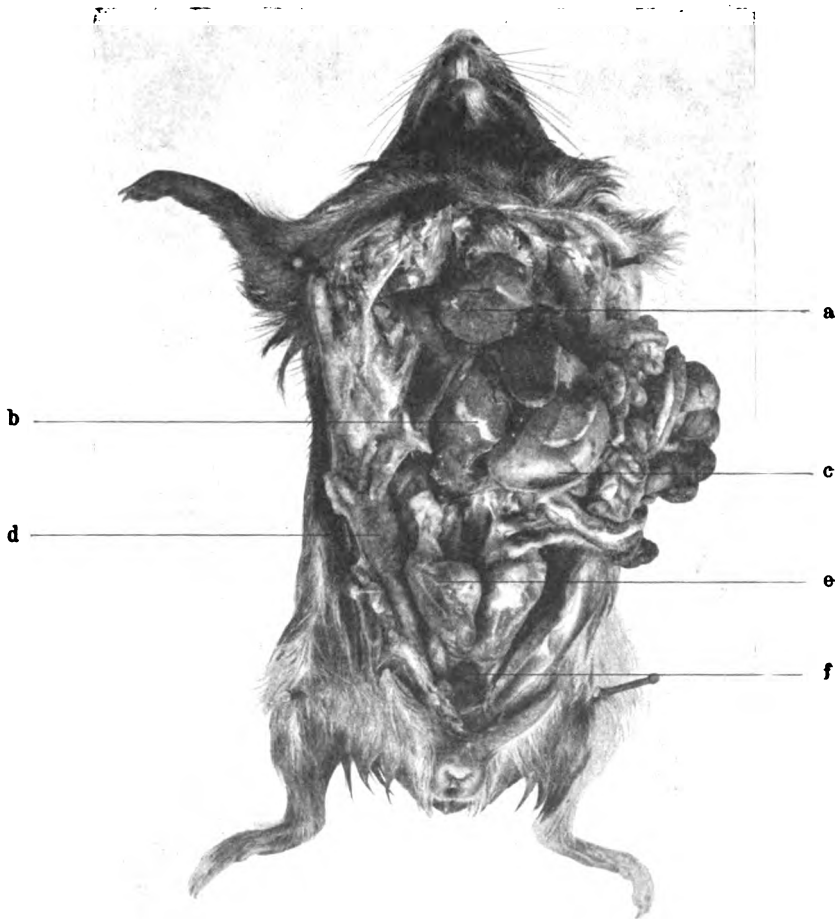


Fig. 1. Guinea pig No. 18. Gross pathological lesions.
(*Piroplasma commune*.)

a Hemorrhagic lungs. *b* Edge of fatty degeneration of liver. *c* Hemorrhages on stomach. *d* Sub-peritoneal hemorrhages. *e* Pregnant icterus, hemorrhagic. *f* Bladder showing hematuria.

Various blood stains were used but none proved absolutely satisfactory. The staining technique will be discussed briefly at another point.

By means of Wright's modification of Jenner's stain applied for a long period of time we were able to demonstrate in the blood of guinea pig twelve (Gp 12) protozoan parasites inside the erythrocytes (Fig. 1). These organisms are similar to the *Piroplasma canis* and

in some ways resemble the *Piroplasma bigeminum*. Those forms already observed have been very irregular. It will be noted that Gp 12 was inoculated from Gp 10, Gp 10 from Gp 5, Gp 5 from Gp 2, and Gp 2 from P 1 B. The parasite was first demonstrated in the fourth generation from P 1 B. The piroplasma, for it undoubtedly belongs to

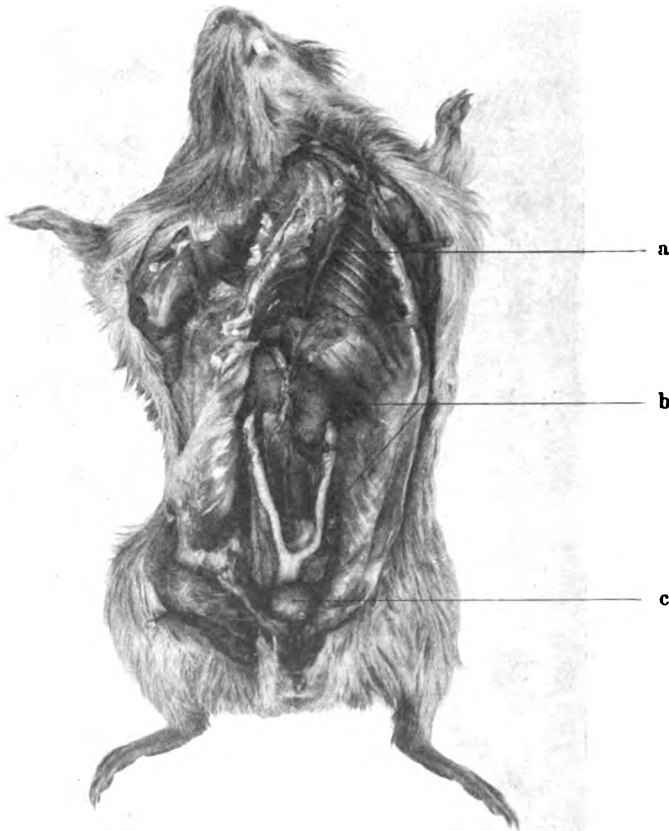
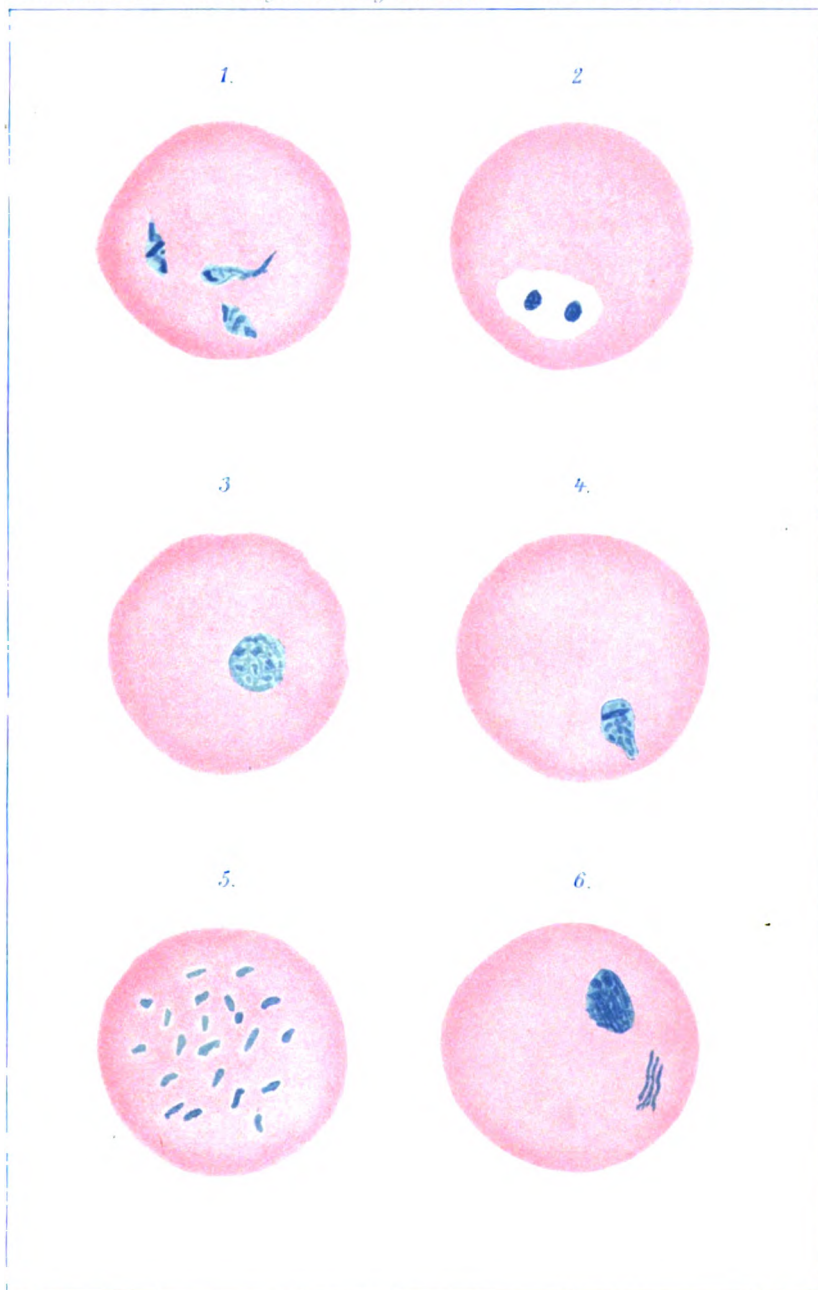


Fig. 2. Guinea pig No. 14. Showing sub-serous hemorrhages. Organs removed.
(*Piroplasma commune*.)

a Sub-pleural hemorrhages. b Sub-peritoneal hemorrhages. c Bladder showing hematuria.

this class, was again noted in the next (5th) generation in Gp 14 (Fig. 2) and in D 17. This is the first time the piroplasma was demonstrated in a dog. In the sixth (6th) generation the piroplasma was again found in Gp 21 and its demonstration in C 22 was doubtful. The organisms was again noted in the seventh (7th) generation in Gp 28, in the eighth (8th) generation in Gp 18 (reinoculated) and D 31 in the ninth (9th) generation in Gp 36 and Gp 37, in the tenth generation (10th)



Gp. 45, 46 and 47 (all reinoculated) and in the eleventh (11th) generation in D 54. The disease failed for some unknown reason to be transmitted further than the twelfth generation. The piroplasma has not been demonstrated elsewhere than indicated (see Table of Inoculations). On account of the fact that the piroplasma is pathogenic for more than one species of animal we have named it *Piroplasma commune*. No explanation can be offered as to why the organism was not found in every animal having the disease except that it is one of the most difficult blood parasites to stain known and our methods and technique are imperfect as yet. Dog (D 31) showed a typical clinical case of the disease. The dog was killed and the blood (10 ccm) was injected intravenously into a cow (Co 41) and the same amount intravenously into horse (H 42), 1.5 ccm was injected intraperitoneally into a cat (C 40) (reinoculated D 38) (see Table), and 3 ccm intraperitoneally into a dog. The horse and the cow showed nothing, the dog and cat became slightly anemic and carried some temperature suggesting the chronic form of the disease caused by the *Piroplasma canis* (Piana and Galli-Valerio). Several of the dogs inoculated showed the same symptoms. It should be noted that the only infection showing pronounced icterus obtained in a dog since bitch A and litters A and B puppy C was in D 31 and D 54. Dogs 17, 23, 24, 35, 38, 49, 56, 57, as before mentioned showed a slight anemia, fever but no icterus. The piroplasmata were demonstrated in three dogs (D 17, D 31, D 54). The disease could not be transmitted to rabbits or rats.

Although the disease is very virulent for guinea pigs when inoculated into the peritoneal cavity or subcutaneously it is not contagious in the least. A large number of control animals placed in the same cages with those having the disease remain immune. The *Piroplasma commune* is evidently carried into the body naturally by some means such as ticks, fleas, mosquitoes or uncinaria. This point will be thoroughly investigated and reported on later.

Feeding dogs the guinea pigs which have died of the piroplasmosis produces no pathological symptoms or immunity to subsequent inoculation. Guinea pigs succumb to infections frequently on being reinoculated (see Table of Inoculations). Certain animals on being reinoculated do not show any of the symptoms shown on first inoculations. This is true of cat (29) which has repeatedly received reinoculations and no effect was produced except the anemia after the first inoculation. Certain dogs used in our experiments showed no clinical symptoms on reinoculation. There was no evidence of anaphalaxis on the part of any reinoculated animal.

Staining technique.

As before stated, various blood stains were tried but none have so far proved absolutely satisfactory. The following method has given the best results.

1) Smear slides as thin as possible according to the ordinary method.

2) Immerse slides in Wright's modification of Jenner's stain in Coplin jars for three (3) minutes.

3) Remove two-thirds ($\frac{2}{3}$) of the stain and dilute the remainder with distilled water until a metallic lustre appears on the surface. Cover and shake continually twenty minutes.

4) Wash slides in jet of distilled water until they become a yellowish hue.

5) Dry as rapidly as possible on filter paper and mount in pure xylol, Canada balsam (acid free).

Results have also been obtained by treating the blood smears with the stain for long periods of time (24 hours).

The piroplasma have also been demonstrated by a mixture of Azur I and aqueous eosin.

The *Piroplasma commune* is a very difficult organism to stain. It is only by the most careful technique that results are obtained. Care should be taken not to confuse the piroplasma with any of the adventitious bodies such as the chromatin from leucocytes and other artifacts which sometimes appear in and on certain of the erythrocytes. Stained preparations of the piroplasmata rapidly lose their color.

The *Piroplasma*.

The *Piroplasma commune* with which we are dealing in this series of experiments is very similar in action to the *Piroplasma canis* (Piana and Galli-Valerio) of the so-called canine malaria, malignant jaundice, biliary fever etc.

Two regular forms of the parasite have been noted so far, a round and a piroform or pear shape (Figs. 3, 4). The size varies in the round forms, which are more abundant, from 5 to 1.5 microns in diameter and in the pear shaped forms from 1.5 to 2 microns in width at the widest place and from 2 to 3 microns in length. There is great pleomorphism among the piroplasmata as in *Piroplasma canis* and *Piroplasma bigeminum*.

In certain of the erythrocytes chromatin from disintegrated piroplasmata is found distributed through the cells (Fig. 5). In only a few of the erythrocytes were more than one piroplasma found (Fig. 2). Certain of the *Piroplasma commune* are very similar in appearance to the piroplasmata of Texas fever (*Piroplasma bigeminum*) (Smith and Kilborne). They, however, stain a much lighter color when treated with the stain, which was used on *Piroplasma commune*.

It will be noted that the *Piroplasma commune* has been found to be very infectious and pathogenic for guinea pigs, producing death on the average of six or seven days. It also produces some pathological symptoms in cats and adult dogs. The infection is very fatal to puppies and in spontaneous infections, to old dogs. The infecting piroplasmata are present in the blood for at least six months in some cases.

The *Piroplasma canis*, described by various authors, has never been successfully inoculated into any animal except a dog. All the other experimental animals have been tried. The *Piroplasma canis* is an easy organism to stain. It has been demonstrated in fresh blood although it possesses no pigment. By the addition of methylene blue to fresh blood this piroplasma can be stained alive and easily seen projecting pseudopodia. Nocard (1) says that these pseudopodia may become so long that they may be mistaken for flagella. Schilling (2) gives an excellent detailed description of the *Piroplasma canis*. Nuttall and Graham-Smith (15) and Christophers (16) have recently published an exhaustive papers on the morphology and life history of *Piroplasma canis*. A detailed study of the new piroplasma will be made by us and reported on later.

The first observations of a canine disease caused by a hematozoa were made in Milan, Italy in 1895 by Piana and Galli-Valerio (3). These investigators described intracorpuseular parasites which were found in sick dogs and recognized the similarity of these organisms to the

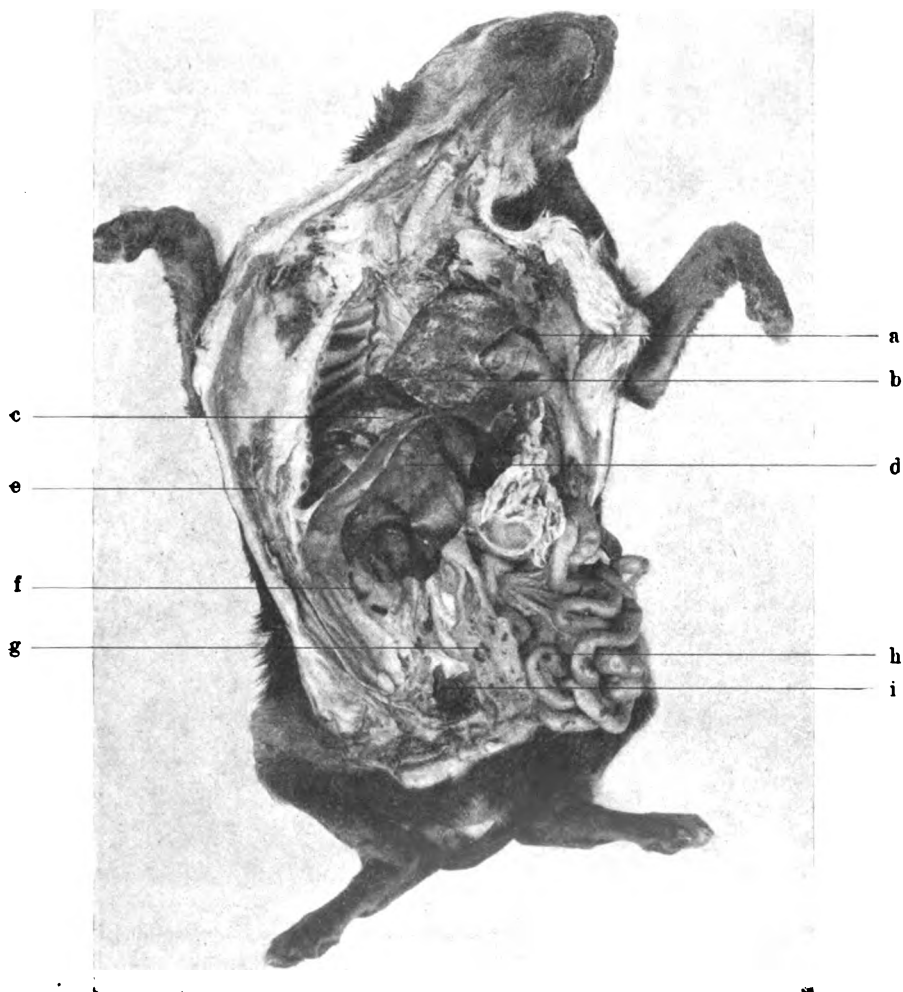


Fig. 3. Dog No. 54. Gross pathological lesions.

(*Piroplasma commune*.)

a Pericardial hemorrhage. b Hemorrhagic lungs. c Normal lung. d Hemorrhagic liver. e Subcutaneous suggillation. f Subcapsular hemorrhages kidney. g Hemorrhagic areas in duodenum. h Intestinal hemorrhages. i Bladder showing hematuria.

Piroplasma bigeminum (Smith and Kilborne) of Texas fever. They called the organism *Piroplasma bigeminum* var. *canis*.

In 1898 Koch (4) in East Africa found in the blood of diseased dogs a piroplasma which has since proven to be the *Piroplasma bigeminum* var. *canis* (Piana and Galli-Valerio).

Hutchinson and Robertson (5) on investigating the so-called "billious fever" of dogs in South Africa found the same piroplasma. In this instance the piroplasma was discovered by Dr. Carrington Purvis, of the Bacteriological Institute at Grahamstown.

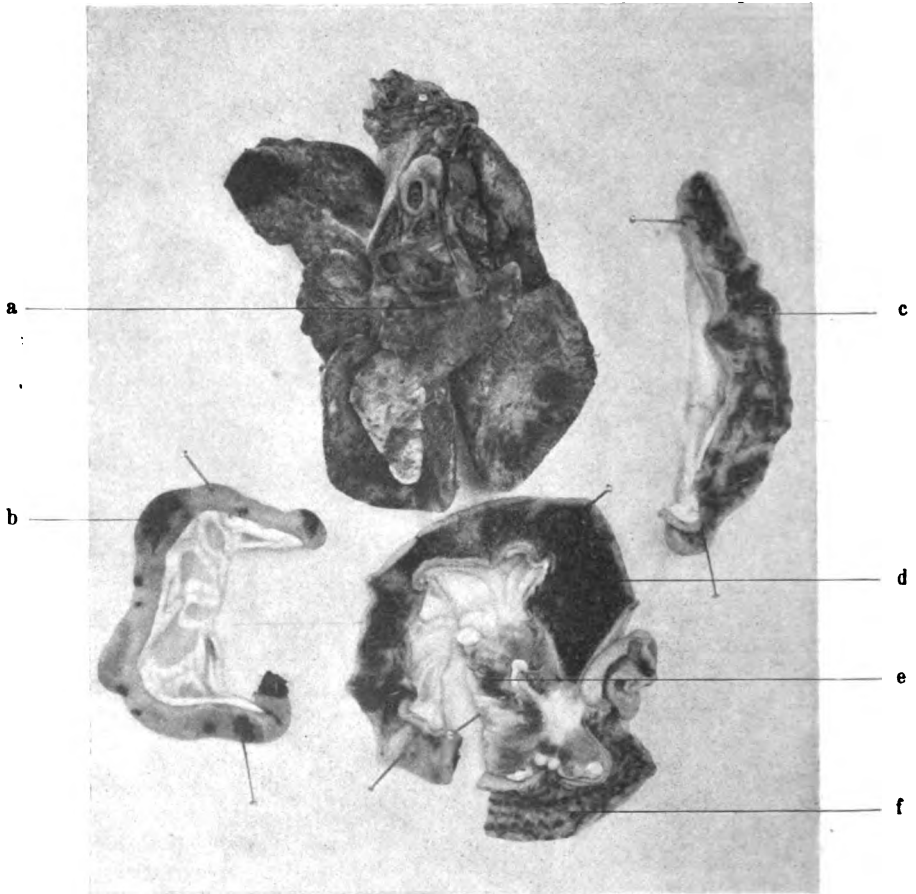


Fig. 4. Lungs and intestines from a spontaneous case of infectious jaundice in a dog. (*Piroplasma commune*.)

a Hemorrhagic lungs. *b* Sub-peritoneal hemorrhages-small intestines. *c* Hemorrhages within small intestine and *Uncinaria canis*. *d* Hemorrhages in small intestines. *e* Hemorrhagic lymph nodes. *f* Hemorrhages in large intestines.

Almy (6), Leblanc (7), Marchaux (8), Nocard (1), and others showed that the diseases of the dog which are called "biliary fever" in South Africa, "fièvre bilieuse" and "jaunisse maligne" in France are due to the *Piroplasma canis* of Piana and Galli-Valerio.

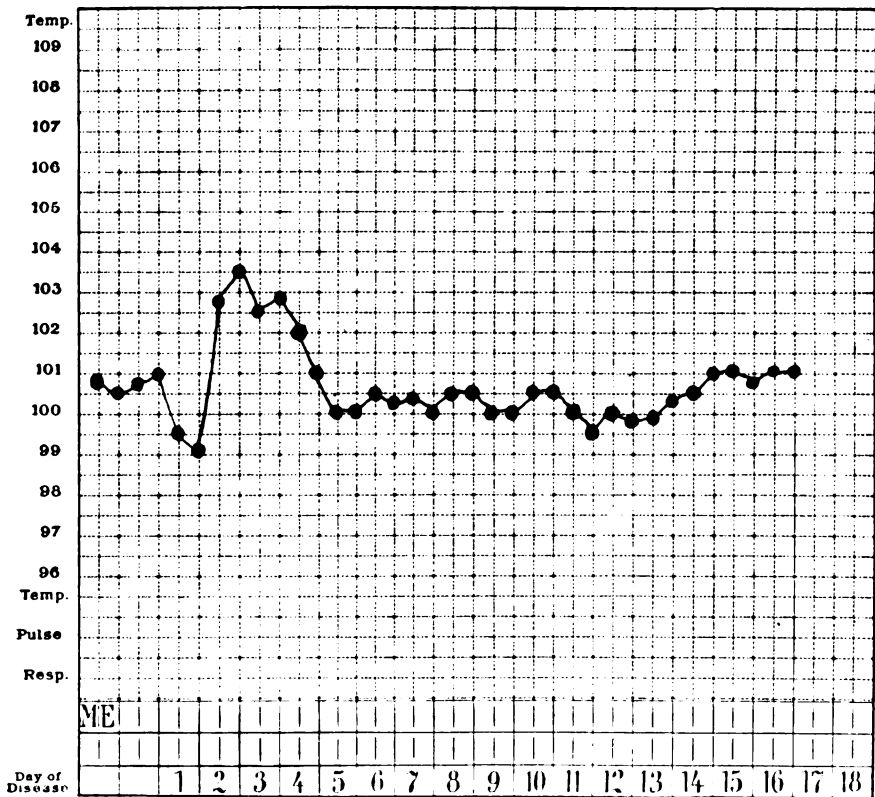
Nuttall (9) says that there is no reason for supposing that the African piroplasmosis is due to a different cause from the European piroplasmosis. The slight differences might be due to individual variations of the piroplasma.

Schilling (2) ventures the opinion that the majority of malignant jaundice in dogs in Germany is due to a piroplasma.

No records of any piroplasmoses of dogs with jaundice have been recorded in United States.

There is a probability that "canine malaria", "malignant jaundice", etc. so-called, was first noted in 1885 in South Africa. The cause of the disease was not known and no experiments were made. In 1892 Babes (10) in Romania, discovered a parasite in the red blood corpuscle of a sheep but took it for a bacterium. In 1894 Smith and Kilborne (11) discovered intracorpuseular parasites in the blood of cattle afflicted with Texas fever. Piroplasmata have also been observed in the blood of horses.

Nocard (1) distinguishes between an acute and chronic form of the piroplasmosis. We are able to make this division in our experiments. The disease in the animals runs an entirely different course. In the acute form the animals are depressed, refuse food, drink a great deal of water and according to Nocard scarcely ever vomit. Our experiments differ in the last mentioned point as vomiting is a quite common symptom in dogs. There is a progressive paralysis of the hind limbs and in as short a time as eighteen hours (Theiler), or from three to ten days



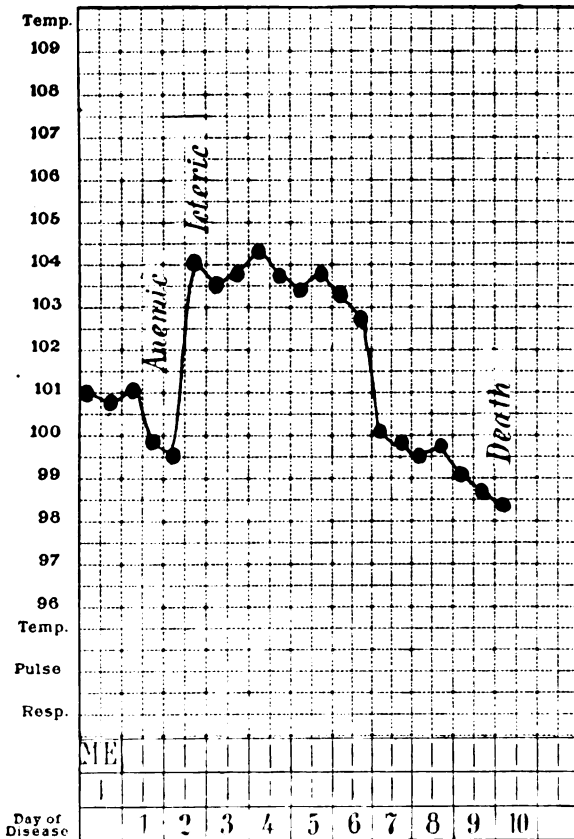
Typical temperature chart of chronic case of infectious jaundice in a dog due to *Piroplasma commune*.

(Nocard, Phillips and Mc Campbell) the animal is dead. No animal inoculated by us died in less than six days. Anemia is prominent symptom followed by icterus of the mucous membranes and other tissues of the body. The symptoms observed in the chronic form of the disease were not due to intestinal parasites.

Hemoglobinuria is almost a constant symptom according to Nocard. The hemoglobin may be as high as 3.5% in the urine (Schilling). In our experiments hemoglobinuria was not noted in any of the inoculated animals. Hematuria was present in twenty five per cent. of the cases. Nocard says that hemoglobinuria scarcely ever persists until death. The fever in piroplasmosis canis (Piana and Galli-Valerio) suddenly rises to 103° F to 104° F and remains up for three or four days then falls to subnormal before death. This was the condition of affairs in all our inoculated animals which were infected by the *Piroplasma commune* (see Temperature Chart).

In the chronic form of piroplasmosis canis (Piana and Galli-Valerio) and the piroplasmosis herein described, the anemia is a very prominent symptom. Icterus is rarely noted and Nocard and ourselves

have never been able to demonstrate any hemoglobinuria. The per cent. of hemoglobin in the blood is very low (40%). The animals usually carry a temperature which reaches a maximum in twenty-four hours and then the temperature falls irregularly. For about twelve to eighteen hours preceding the rise in temperature the animals show about one degree subnormal temperature (see Temperature Chart). Nocard noted in piroplasmosis canis (Piana and Galli-Valerio) a quartan type of fever. The mucous membranes are of a pale blue color and the animals become rapidly emaciated. Nocard and Robertson (12) state that after trying all other animals, that the *Piroplasma canis* (Piana and



Typical temperature chart of acute case of infectious jaundice in a young dog due to *Piroplasma commune*.

Galli-Valerio) can not be transmitted to other animals than dogs. Our experiments show that young dogs under six months are especially susceptible to the acute form of the disease.

The piroplasmosis with which we are dealing is as pathogenic to guinea pigs as it is to dogs and produces the same pathological changes in both. It has been demonstrated by Lounsbury (13) that the *Piroplasma canis* (Piana and Galli-Valerio) is transmitted from dog to dog in South Africa by means of the dog tick (*Haemophysalis leachii*). He has shown that the piroplasma is only transmitted by the adult sexual tick. It therefore lies dormant in the larval and nymph stages. The findings are the same as found by Motas (14) in investigating the transmission of the piroplasma of sheep by *Rhipicephalus bursa*.

The question as to the manner of transmission of the piroplasma described in this article is being investigated. The proposition in regard to the establishment of an immunity to the disease will also received careful attention.

Transmission experiments.

Experiments have been made in a limited way with *Uncinaria canis*. In some cases it would seem that the uncinaria was an agent in the transmission of this infection. Further experiments will be conducted before any definite statements are made.

From a brief series of experiments it would seem that the dog flea (*Ctenocephalus canis*) is not an intermediary host of the piroplasmata. Fleas from jaundiced dogs placed on healthy dogs and allowed to remain several weeks in a flea-proof cage produced no infection.

Experiments with the wood-tick (*Dermacentor occidentalis*) did not prove this tick to be concerned in the transmission of the disease. Owing to the season of the year no ordinary wood ticks (*Dermacentor electus*) could be secured. Further experiments with the wood tick will be made as soon as the opportunity presents itself. We are indebted to Prof. H. T. Ricketts of the University of Chicago, for the specimens of *Dermacentor occidentalis* used in these experiments.

The possibilities of the transmission of the disease by means of the mosquito and by lice have not been investigated.

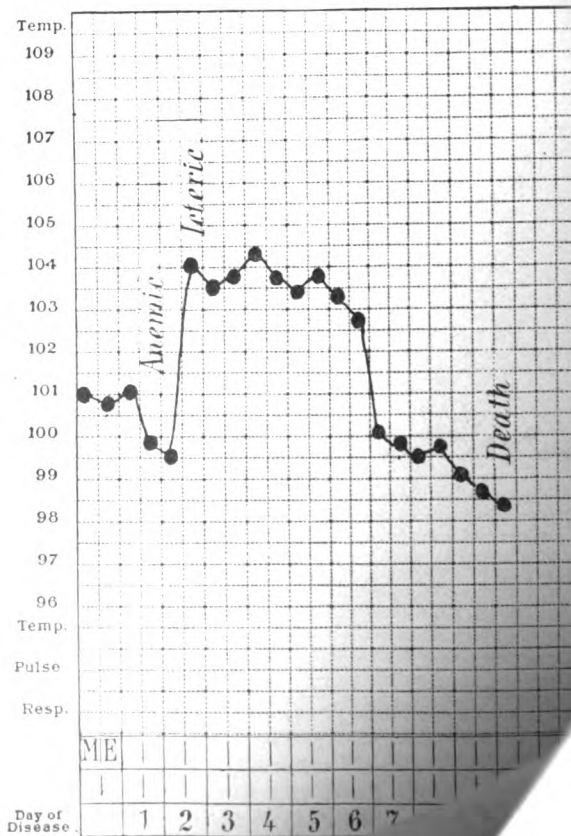
Bibliography.

- 1) Nocard and Motas, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902. p. 257.
Nocard and Almy, Recueil méd. vétér. 1901.
Nocard, Bull. soc. cent. méd. vétér. 1902. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIII. 1903.
- 2) Schilling, Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle-Wassermann. Ergänzungsbd. p. 76.
- 3) Piana and Galli-Valerio, Moderno Zooiatro. 1895. Autoreferat im Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVIII. 1895; Bd. XXXIV. 1904.
- 4) Koch, Reiseberichte usw. Berlin 1898.
- 5) Hutcheon, Vet. Journ. Cape Town. 1893; 1899.
Hutcheon and Robertson, Vet. Record. 1902.
- 6) Almy, Bull. soc. cent. méd. vét. 1901.
- 7) Leblanc, Compt. rend. soc. de biol. 1900. p. 70.
- 8) Marchoux, Compt. rend. soc. de biol. 1902; 1903.
- 9) Nuttall, Journ. of Hyg. 1904.
- 10) Babes, Compt. rend. de l'Acad. des sciences. 1888—1902.

(Nocard, Phillips and Mc animal inoculated by us died in symptom followed by icterus of the of the body. The symptoms observed were not due to intestinal parasites.

Hemoglobinuria is almost a constant. The hemoglobin may be as high as 3. In our experiments hemoglobinuria was oculated animals. Hematuria was present the cases. Nocard says that hemoglobin until death. The fever in piroplasmosis (Valerio) suddenly rises to 103°F to 104°F or four days then falls to subnormal before the Piroplasma commune (see Temperature).

In the chronic form of piroplasmosis (Valerio) and the piroplasmosis herein described prominent symptom. Icterus is rarely noted and



Typical temperature chart of jaundice in a young dog due

- 11) Smith and Kilborne, Bull. No. 1. Bureau of Animal Industry. U. S. Depart. of Agriculture.
- 12) Robertson, Journ. of Comparative Pathology and Therapeutics. Vol. XIV. p. 327. Agriculture Journ. Cape Town. 1901; 1902.
- 13) Lounsbury, Agriculture Journ. Cape of Good Hope. 1901; 1902.
- 14) Motas, Compt. rend. soc. de biol. 1902; 1903.
- 15) Nuttall and Graham-Smith, Journ. of Hyg. 1907. April.
- 16) Christophers, Memoirs by Officers of the Med. and San. Dept. of the Gov. of India. 1907.

Nachdruck verboten.

Notes de Parasitologie.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **B. Galli-Valerio.**

Avec 1 figure.

A. Parasites végétaux.

1. Sur un bacille isolé d'un cas de choléra nostras.

M^{me} X., âgée de 48 ans. Fièvre typhoïde à 9 ans suivie d'une entérite à rechutes. Depuis quelques jours elle a du malaise, du dégoût pour les aliments et des douleurs dans les jambes. Le 17 nov. 1907 elle mange à souper $\frac{1}{2}$ pigeon. Le 18 à 11 heures du soir elle est prise de diarrhée et dès 1 heure du matin par des vomissements tous les quarts d'heure. Les selles sont liquides, d'aspect absolument riziforme. Le ventre est douloureux. Abattement, vertiges, palpitations cardiaques, poulx rapide, faible, dépressible, crampes dans les mollets, extrémités froides. M^r le Dr. Pochon, qui m'a fourni ces renseignements et que je remercie ici beaucoup, dit que l'affection semblait tout à fait être le choléra. La diarrhée cessa la nuit du 19 au 20 nov. après ingestion de calomel. Faiblesse et anoréxie pendant trois jours. La patiente garde le lit pendant 6 jours et se rétablit complètement.

Des selles riziformes de cette malade, j'ai obtenu le développement d'innombrables colonies rondes, transparentes, à contours légèrement festonnés, se rapprochant plus des colonies de *B. typhi* que de celles de *B. coli*. Elles étaient formées par un bâtonnet à extrémités arrondies, d'une mobilité intermédiaire entre celle de *B. coli* et celle de *B. typhi*. Coloré par les méthodes de Valenti, Harrison, van Ermenghem il ne présentait que 2—3 cils fins et courts. Il ne prenait pas le Gram. Ce bacille ne liquéfiait pas la gélatine, donnait sur pomme de terre une couche humide blanchâtre, troublait le bouillon sans voile, colonies bleues sans développement de gaz sur agar lactosé tournesolé, point de fermentation du glycose, point de réaction de l'indol point de coagulation du lait. Toutes ces cultures dégageaient une odeur fécaloïde. Je n'ai malheureusement eu du sérum de la malade que le 6 déc. Le sérum n'agglutinait le bacille en question qu'à 1:25, et l'agglutinait faiblement; déterminant plutôt son immobilisation à 1:50.

1 c.c. d'une culture en bouillon de ce bacille, inoculé sous la peau de la cuisse d'un rat blanc, l'a tué en 2 jours, avec tuméfaction et forte infiltration hémorragique de la partie inoculée, forte tuméfaction de la rate, congestion du foie, hyperémie du péritoine avec un peu d'exsudat liquide, hyperémie de l'intestin. Le bacille existait au point inoculé,

dans le sang, la rate, le foie et dans l'exsudat péritonéal. Il était agglutiné par le sang du rat ayant succombé à l'infection, à 1 : 50, 1 : 100.

Un autre rat blanc à qui j'ai donné à manger des morceaux de rate, de foie et de muscles du rat précédent, n'a pas présenté de troubles morbides appréciables.

1 c. c. d'une culture en bouillon du bacille isolé des selles riziformes, inoculé sous la peau d'une cuisse d'un cobaye, a déterminé malaise général, diarrhée, tuméfaction douloureuse au point inoculé, tuméfaction qui s'ouvre au 15^{ème} jour, donnant issue à un pus jaune-verdâtre à odeur désagréable. L'animal qui a fortement maigri et a de la peine à se traîner, succombe le même jour. Au point inoculé il y a un énorme abcès dont le pus épais, verdâtre, à odeur fécaloïde, décolle les muscles. Infiltration hémorragique du tissu conjonctif remontant jusqu'à la région abdominale. Tuméfaction de la rate, congestion du foie, hyperémie de l'intestin, surtout du gros intestin, avec de petites hémorragies sous-séreuses. Le bacille se trouve dans le pus de l'abcès, où il est en grande partie phagocyté, dans la rate, le sang, le foie et les reins.

Un lapin inoculé comme le rat et le cobaye est resté triste pendant quelques jours, mais il s'est complètement remonté.

Le bacille que je viens de décrire, qui occupe certainement une place dans le groupe Enteritidis-paratyphique, et qui par quelques caractères se rapproche de *B. alcaligenes*, a-t-il joué un rôle dans ce cas de choléra nostras?

Le fait de la présence à l'état presque pur de ce bacille dans les selles riziformes, son action pathogène pour le rat blanc et le cobaye chez lesquels il a démontré une certaine action élective pour l'intestin, me le font admettre. Le fait de l'absence d'une agglutination typique n'a pas une grande valeur, surtout parce que le sérum a été récolté longtemps après la guérison. Résoudre la question, si le bacille a été ingéré avec le pigeon ou s'il existait déjà dans l'intestin de la malade, est aussi difficile. Mais si on réfléchit que déjà depuis quelques jours avant l'ingestion du pigeon, la malade avait du dégoût pour les aliments et un malaise général, je suis plutôt porté à penser que le bacille en question se trouvait déjà dans l'intestin, et qu'une indigestion a favorisé son rôle pathogène qui avait déjà commencé à se manifester.

B. Parasites animaux.

1. Sur quelques protozoaires parasites observés dans le canton de Vaud.

Je signalerai la présence de *Eimeria Stiedai* (Lindemann) chez *Lepus timidus* (Crébillon, Jura). J'ai trouvé de ces coccidies dans des matières fécales de lièvre sur la neige avec une température de — 3°. Elles se développaient très bien sur plaques d'agar. Je garde du reste très bien conservée *E. Stiedai* du lapin dans des excréments humides de cet animal depuis 6 et 7 ans.

Chez un *Mus musculus* de la variété noire à Lausanne, j'ai trouvé l'intestin rempli de *Laublia intestinalis* (Lambl). Dans le rectum il y avait des formes enkystées, ovoïdes marquées par une fine ligne sinueuse longitudinale. Elles donnaient l'impression d'être le résultat de la réunion de deux exemplaires de *L. intestinalis* par leur surface excavée (Copulation de Schaudinn?). Des kystes analogues

se sont formés en ensemençant le contenu de l'intestin de cette souris sur plaque d'agar. Chez cette même souris il y avait dans le foie de petits nodules blanchâtres dont le raclage examiné au microscope présentait au milieu de détritux cellulaires, des corpuscules ovoïdes ou ronds de 26—30 μ contenant des granulations réfringentes et qui faisaient l'impression de coccidies en voie de dégénérescence (*Eimeria falciformis*. Eimer?).

2. Sur une *Cercaire* de *Limnaeus truncatulus*. Müll.

Chez deux sur 14 exemplaires de *L. truncatulus* trouvés dans une toute petite mare à Sondrio (Valtelline, Italie) au courant du mois d'août 1907, j'ai trouvé un grand nombre de cercaires à ventouse orale pourvu d'un petit stylet très mobile, ventouse ventrale beaucoup plus grande que la ventouse orale, queue présentant une série de rétrécissements en boudin. Appareil digestif peu manifeste. Cette cercaire, douée d'une mobilité et d'une contractilité extrême, changeait continuellement de forme. Elle se rapproche de *Cercaria armata* de *Limnaeus stagnalis*.

3. Contribution à l'étude de la fréquence des helminthes chez les animaux.

Dans des travaux précédents¹⁾ j'ai exposé les résultats de quelques recherches sur la fréquence des helminthes chez l'homme. Je donne ici le résumé d'une série d'observations faites sur les animaux à Milan, observations que je n'ai jamais publiées.

Sur 162 chiens sectionnés il y en avait 72 (44,44 %) porteurs d'helminthes et précisément:

| | | | |
|------------|---|------|--|
| 17 (10,49) | % | avec | <i>Ascaris canis</i> . |
| 5 (3,08) | " | " | <i>Filaria immitis</i> . |
| 3 (1,85) | " | " | <i>Eustrongylus gigas</i> . |
| 19 (11,72) | " | " | <i>Dipylidium caninum</i> . |
| 1 (0,61) | " | " | <i>Taenia serrata</i> . |
| 1 (0,61) | " | " | <i>Opisthorchis felinus</i> . |
| 2 (1,23) | " | " | <i>Hemistoma alatum</i> . |
| 10 (6,17) | " | " | <i>A. canis</i> et <i>D. caninum</i> . |
| 1 (0,61) | " | " | <i>F. immitis</i> et <i>D. caninum</i> . |
| 2 (1,23) | " | " | <i>D. caninum</i> et <i>T. serrata</i> . |
| 1 (0,61) | " | " | <i>D. caninum</i> et <i>Mesocostoides lineatus</i> . |
| 1 (0,61) | " | " | <i>D. caninum</i> et <i>Bothriocephalus latus</i> . |
| 2 (1,23) | " | " | <i>D. caninum</i> et <i>H. alatum</i> . |
| 1 (0,61) | " | " | <i>T. serrata</i> et <i>H. alatum</i> . |
| 1 (0,61) | " | " | <i>B. latus</i> et <i>H. alatum</i> . |
| 1 (0,61) | " | " | <i>A. canis</i> , <i>F. immitis</i> et <i>Trichosoma plica</i> . |
| 2 (1,23) | " | " | <i>A. canis</i> , <i>D. caninum</i> et <i>H. alatum</i> . |
| 1 (0,61) | " | " | <i>F. immitis</i> , <i>D. caninum</i> et <i>T. serrata</i> . |
| 1 (0,61) | " | " | <i>F. immitis</i> , <i>D. caninum</i> et <i>B. latus</i> . |

Sur 12 chats sectionnés il y en avait 10 (83,33 %) infectés d'helminthes et précisément:

| | | | |
|-----------|---|------|---|
| 3 (25) | % | avec | <i>A. canis</i> . |
| 2 (16,66) | " | " | <i>D. caninum</i> . |
| 4 (33,33) | " | " | <i>A. canis</i> et <i>D. caninum</i> . |
| 1 (8,33) | " | " | <i>A. canis</i> et <i>Str. pusillus</i> . |

1) Therapeut. Monatshefte. 1905. Juli. — Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907. p. 523.

Sur 48 chevaux sectionnés il y en avait 31 (64,58 %) porteurs d'helminthes et précisément:

| | | |
|-----------|------|---|
| 7 (14,58) | avec | <i>Spiropt. reticulata</i> . |
| 2 (4,16) | " | <i>Spiropt. megastoma</i> . |
| 1 (2,08) | " | <i>Spiropt. microstoma</i> . |
| 3 (6,25) | " | <i>Scl. equinum</i> . |
| 7 (14,58) | " | <i>Filaria equina</i> . |
| 3 (6,25) | " | <i>Asc. equorum</i> . |
| 1 (2,08) | " | <i>Echin. polymorphus</i> . |
| 1 (2,08) | " | <i>Anop. perfoliata</i> . |
| 1 (2,08) | " | <i>Asc. equorum</i> et <i>Scl. equinum</i> . |
| 1 (2,08) | " | <i>Asc. equorum</i> et <i>Ox. equi</i> . |
| 1 (2,08) | " | <i>Asc. equorum</i> et <i>Fil. equina</i> . |
| 1 (2,08) | " | <i>Scl. equinum</i> et <i>Fil. equina</i> . |
| 1 (2,08) | " | <i>Asc. equorum</i> , <i>Spir. reticulata</i> et <i>Fil. equina</i> . |
| 1 (2,08) | " | <i>Scl. equinum</i> , <i>Spir. megastoma</i> et <i>Fil. equina</i> . |

4. Observations sur la biologie des Ixodins.

Au point de vue de la résistance au jeûne et de l'alimentation des Ixodins, j'ai constaté: 1° Que des jeunes ♀ d'*I. hexagonus* prises sur un chat sur lequel elles ne s'étaient pas encore repues ont résisté au jeûne de 2—4 mois $\frac{1}{4}$. 2° Des ♀ d'*I. ricinus* non encore complètement repues prises sur un chien, placées sur de la terre sont mortes de 1 à 3 mois après. Trois nymphes et 2 ♂ d'*I. ricinus* sont placés dans un bocal avec des cerises sur lesquelles on les voyait se tenir très souvent. Des nymphes, une est morte après 36 jours, 2 après 40 jours, les 2 ♂ après 50 jours. Je n'ai remarqué aucun développement chez les nymphes placées dans ces conditions. Les 2 ♂, portés sur mon bras plusieurs fois, se sont toujours refusés à piquer.

Au point de vue de la ponte: 1° Une ♀ d'*I. hexagonus* complètement repue prise sur un chien est placée dans une boîte en verre sans terre. Dans l'espace de quinze jours elle se couvre complètement d'œufs qui adhèrent à son corps, de sorte que je peux transporter la tique avec ses œufs sur de la terre. Elle continue alors la ponte, restant absolument immobile au milieu de l'énorme amas d'œufs. Elle a succombé 23 jours après le début de la ponte, réduite à un sac vide et plissé. La terre étant maintenue dans un état de demi-humidité, l'éclosion des œufs a eu lieu environ 5 semaines (saison d'été) après le début de la ponte. Malheureusement le développement ultérieur n'a pas pu être suivi.

2° Sur de la terre légèrement humide contenue dans une boîte en verre, j'ai placé des ♀ d'*I. ricinus* prises sur un chien. Une était très grosse, complètement repue, les autres de taille moyenne, non complètement repues. Toutes présentaient une coloration rouge foncé. La grosse tique, après avoir pondu 2 petits amas d'œufs, s'est immédiatement immobilisée dans le voisinage de ces œufs et a commencé la ponte. Sa tête disparaissait petit à petit sous l'énorme amas d'œufs qui s'amoncelait autour d'elle (fig. 1a). À mesure que la ponte avançait, la tique présentait une coloration violacée et était couverte de gouttelettes d'un liquide visqueux. La peau s'affaissait et se plissait. La ponte a duré environ 1 mois, et la ♀ a succombé réduite à un sac vide et plissé. Quant aux ♀ non encore complètement repues, une a pondu par ci par là des œufs isolés ou en petits amas, puis s'est fixée dans un point avec un autre et y a pondu un amas d'œufs un peu plus grand (fig. 1b). Toutes les autres ont fini par se rapprocher de la grande

femelle et s'immobiliser autour d'elle où elles ont succombé aussi, environ 1 mois après avoir été prises sur le chien (fig. 1a). La terre de la boîte s'étant desséchée pendant la saison d'été, pas un seul œuf n'a éclos.



Ceci explique pourquoi on trouve dans nos contrées *I. ricinus* exclusivement dans des endroits à terrain humide et couverts de broussailles qui protègent le sol contre la dessiccation. Les œufs d'*I. ricinus* sont de forme ovoïde, de coloration jaune-brun et réunis entr'eux par des bandelettes de substance visqueuse, transparente. Ils adhèrent fortement au corps de la ♀, surtout à sa tête et à ses pattes.

Lausanne, 11 mai 1908.

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über Sarkosporidien.

[Laboratorium für allgemeine Pathologie und Histologie der K. Universität Pavia. Leitung: Prof. C. Golgi.]

Zweite Mitteilung.

Von Dr. A. Negri, Privatdozenten und Assistenten.

Mit 1 Tafel.

Interessante Untersuchungen von Smith¹⁾ haben schon vor Jahren die Möglichkeit dargetan, bei einigen Säugetieren die Sarkosporidieninfektion experimentell hervorzurufen.

Smith hat nämlich bei Mäusen — in der Regel bei der Hausmaus (*Mus musculus* L.), aber sonst auch bei weißen Mäusen (*Mus musculus* var. *albinus*) — durch Fütterung mit Muskeln von gleichartigen,

1) Smith, Th., The production of sarcosporidiosis in the mouse by feeding infected muscular tissue. (Journ. of exper. Med. Vol. VI. 1901. No. 1.) — Further observations on the transmission of *Sarcocystis muris* by feeding. (Journ. med. Research. Vol. XIII. 1905. No. 4.)

durch *Sarcocystis muris* (Blanchard) Labbé infizierten Individuen bei einem beträchtlichen Prozentsatz der Versuchstiere das Auftreten der Parasiten erzielt. Er hat ferner hierbei feststellen können, daß eine verhältnismäßig lange Zeit erforderlich ist, bis dieselben mit bereits gut entwickelten, mit bloßem Auge sichtbaren Formen auftreten, ein Umstand, der die negativen Ergebnisse früherer Forscher, die gleichfalls den Versuch machten, die Infektion auf dem Wege des Magendarmkanals zu reproduzieren, vielleicht erklären mag.

Trotz des Wertes solcher Versuche, die zuerst zeigten — auch wenn man die Schlußfolgerungen nur auf die untersuchten Säugetiere beschränken wollte — wie durch diese parasitären Protozoen die Infektion erzeugbar ist, haben nur wenige Autoren ihre Aufmerksamkeit auf dieselben gelenkt. Nur zwei, soweit mir bekannt — M. Koch¹⁾ und in jüngster Zeit Negre²⁾ — haben die Untersuchungen des hervorragenden amerikanischen Biologen wiederholt mit Resultaten, welche das von ihm Mitgeteilte vollauf bestätigt haben.

Sowohl Koch als auch Negre haben gleichfalls Mäuse dazu verwendet, indem sie dieselben mit Muskeln anderer, mit *Sarcocystis* behafteten Mäuse infizierten.

Diesen Bestätigungen kann ich noch hinzufügen, daß ich seit mehr als zwei Jahren bei den Muriden die Infektion durch Sarkosporidien erziele, indem ich die Tiere mit *Sarcocystis muris* enthaltenden Muskeln füttere. Während die erwähnten Forscher den *Mus musculus* L. verwendet haben, habe ich mich fast immer des *Mus decumanus* Pall. var. *albinus* bedient, und zwar — bezüglich der Möglichkeit, die Infektion festzustellen — mit dem gleichen Erfolg, was übrigens mit Rücksicht auf die relative Frequenz, womit beide Arten in natura den Parasiten beherbergen können, vorausszusehen war.

Auf die experimentelle Infektion durch *Sarcocystis muris* bei weißen Ratten gedenke ich in einer nächsten Mitteilung näher einzugehen.

Mit vorliegender Mitteilung will ich die interessanten Ergebnisse einer Reihe von Versuchen bekannt geben, welche in der Absicht unternommen wurden, zu ermitteln, ob es denn möglich sei, die experimentelle Sarkosporidieninfektion auch bei anderen Arten von Säugetieren hervorzurufen.

In Anbetracht der nunmehr nicht zu bestreitenden Möglichkeit, die Sarkosporidiose bei den Muriden auf dem Wege des Magendarmkanals zu erzeugen, machte sich der Wunsch, derartige Versuche anzustellen, unwillkürlich fühlbar. Auch blieb eine solche Frage nicht vereinzelt, vielmehr hingen mit derselben noch andere Fragen zusammen, wie z. B. ob der Genuß von Muskeln eines durch ein Sarkosporid infizierten Tieres bei einem solchen, zu einer anderen Art gehörigen die Infektion erzeugen könne; ob in einem solchen Falle der Parasit bei beiden Gasttieren dieselben Merkmale mit denselben Eigenschaften aufweist, usw.

Um auch nur einige dieser Fragen zu lösen, habe ich bereits vor mehreren Monaten eine Reihe von sorgfältigen Untersuchungen an verschiedenen Arten von Säugetieren vorgenommen, die zu verschiedenen Zeiten mit durch Sarkosporidien infizierten Muskeln gefüttert worden waren.

1) Koch, M., Die experimentelle Uebertragung der Miescherschen Schläuche. (Berl. klin. Wochenschr. 1904. p. 374.)

2) Negre, L., Sarkosporidiose expérimentale. (C. R. Soc. Biologie. 26. Oktober 1907. p. 374.)

Nach einigen Versuchen an verschiedenen Tieren habe ich aus Gründen, deren Angabe hier nicht überflüssig wäre, dem Meerschweinchen den Vorzug gegeben.

Wegen seiner verhältnismäßig geringen Körpergröße eignet sich nämlich das Meerschweinchen ganz besonders zu eingehenden mikroskopischen Untersuchungen an ganzen Muskelgruppen.

Ferner gelingt es bei diesen Säugetieren nicht schwer, zahlreiche Individuen anzutreffen, die sämtlich zu derselben Züchtung gehören, gleiches Alter und Gewicht besitzen, stets beisammen und in den gleichen Verhältnissen gelebt haben, lauter Umstände, die mir wertvoll und unumgänglich notwendig erscheinen, will man in zuverlässiger Weise an einigen der Tiere den Versuch anstellen und die übrigen als Kontrolle behalten.

Zieht man schließlich in Betracht, daß es verhältnismäßig leicht gelingt, die Meerschweinchen an den Genuß von infizierten Muskeln zu gewöhnen, und daß ferner das Meerschweinchen eine der wenigen Arten von Säugetieren ist, bei denen bisher keine Sarkosporidien beschrieben worden, so wird es wohl begreiflich erscheinen, wie ich dasselbe vorziehen mußte, um die den Inhalt vorliegender Mitteilung bildenden Beobachtungen anzustellen.

Die nun zu besprechenden Erfahrungen verteilen sich auf drei Versuche, an drei Gruppen von Meerschweinchen angestellt, im ganzen 23 Tiere.

Ich halte es für zweckmäßig, von jedem Versuche die Art und Weise seiner Ausführung anzugeben.

Versuch I.

Zu diesem, am 18. März 1907 begonnenen Versuch habe ich 9, einer Gemeinde der Provinz Brescia entstammende Meerschweinchen verwendet. Die Tiere, deren Gewicht je ca. 400–500 g betrug, waren beisammen in demselben Raum, stets in den gleichen Lebensverhältnissen aufgewachsen.

Von den 9 Meerschweinchen wurden 5 als Kontrolle behalten, die 4 übrigen wurden an den weiter unten angegebenen Tagen mit durch *Sarcocystis muris* infizierten Muskeln von *Mus decumanus* gefüttert.

Die Muskeln waren in der Regel unmittelbar vorher getöteten Tieren entnommen; sie wurden zerschnitten, sodann innig mit Brot oder Kleie vermengt; schließlich wurde das Ganze gewöhnlich mit physiologischer Kochsalzlösung feucht gemacht.

Die ersten Male habe ich für eine Isolierung der einzelnen Tiere in getrennten kleinen Käfigen gesorgt, um ja sicher zu sein, daß jedes derselben die Fleischnahrung wirklich genossen hatte.

Die *Sarcocystis muris* — stets mit freiem Auge sichtbar — enthaltenden Muskeln von *Mus decumanus* wurden 7mal den Meerschweinchen vorgelegt und von denselben recht gern verzehrt; ja die Tiere zeigten für eine solche Nahrung eine Vorliebe, die ich wohl kaum bei Tieren anderweitiger Herkunft wahrgenommen habe.

Die erste Fütterung erfolgte am 18. März, die übrigen am 25. März bzw. 3., 15., 18., 29. April und 6. Mai. Diese Tage ausgenommen, wurden sowohl die Versuchs- als auch die Kontrolltiere in einem und demselben Käfig, und zwar in zwei getrennten Abteilungen, gehalten und stets in derselben Weise gefüttert (Grünzeug und Kleie).

Von den 4 zeitweise mit Fleisch gefütterten Tieren wurde eines am 15. Mai, d. i. 58 Tage nach der ersten Fütterung (Versuch I, Meerschweinchen 1), ein zweites am 4. Juni, nach 78 Tagen (Versuch I, Meerschweinchen 2), ein drittes am 7. Juni, nach 81 Tagen (Versuch I, Meerschweinchen 3), das vierte endlich am 1. Juli, nach 104 Tagen (Versuch I, Meerschweinchen 4), getötet.

Das Allgemeinbefinden der Tiere war stets ein normales, anscheinend vortreffliches.

Von den Kontrolltieren wurde das erste am 18. März, zu Anfang des Versuchs, ein zweites am 25. Mai, ein drittes am 22. Juni, die übrigen am 8 bzw. 10. Juli getötet. (Versuch 1, Kontrollmeerschweinchen 1, 2, 3, 4, 5.)

Versuch II.

Dazu habe ich 5 Meerschweinchen — Gewicht je eins ca. 400 g) — verwendet. Die Tiere stammten aus der Umgebung von Pavia und hatten stets gemeinschaftlich gelebt. In der bereits erwähnten Art und Weise erhielten 3 der Tiere Fleischnahrung, die übrigen 2 blieben als Kontrolle.

Die ersten 6 Meerschweinchen wurden 6mal mit infizierten Muskeln gefüttert (26. März, 15., 16., 18., 29. April und 6. Mai 1907). Bis zum 6. Mai wurden die beiden Tiergruppen voneinander getrennt gehalten, wenn auch in demselben Zimmer, sodann, nach zweckentsprechender Unterscheidung der einzelnen Individuen in einem einzigen Käfig wieder zusammen gebracht.

Die Tiere zeigten sich, besonders die ersten Male, etwas widerstrebend gegen Fleischnahrung, obwohl letztere stets in derselben Art und Weise zubereitet worden, ja sehr oft gerade aus demselben Material bestand, das den Individuen von Versuch I doch so wohlgeschmeckend erschien.

Von den mit Fleisch gefütterten Meerschweinchen wurde das erste am 29. Mai, 64 Tage nach dem ersten Fleischgenuß (Versuch II, Meerschweinchen 1) getötet; eines starb spontan am 23. Juni, nach 89 Tagen (Versuch II, Meerschweinchen 2), das letzte wurde bei anscheinend gutem Befinden am 7. Juli, nach 103 Tagen getötet (Versuch II, Meerschweinchen 3).

Die beiden Kontrolltiere wurden am 1. Mai bzw. 25. Juli getötet (Versuch II, Kontrollmeerschweinchen 1 und 2).

Versuch III.

Dieser Versuch wurde an 9 aus Zinasco (Provinz Pavia) stammenden Meerschweinchen angestellt. Auch diese Tiere gehörten sämtlich zu derselben Züchtung, hatten stets in den nämlichen Verhältnissen gelebt und ungefähr das gleiche Alter (Gewicht jedes einzelnen ca. 400 g).

Vier der Tiere bekamen 6mal infizierte, in der bekannten Weise zubereitete Muskeln von *Mus decumanus*, und zwar am 7., 8., 11., 12., 24., 30. Dezember 1907. Die vor jeder Fütterung etwas hungern gelassenen Tiere verzehrten jedesmal das Material ohne irgendwelche Schwierigkeit. Mit Ausnahme der erwähnten Tage wurden sie durch die ganze Dauer des Versuches in demselben Lokal, obwohl in getrennten Käfigen, mit den Kontrollmeerschweinchen gehalten und in derselben Weise gefüttert.

Die Meerschweinchen der ersten Gruppe wurden an folgenden Tagen geopfert: am 26. Januar 1908, 50 Tage nach dem ersten Fleischgenuß (Versuch III, Meerschweinchen 1), am 28. und 31. desselben Monats, d. i. 52 (Versuch III, Meerschweinchen 2) bzw. 55 Tage (Versuch III, Meerschweinchen 3) nach dem Beginn des Versuches; am 4. Februar, nach 59 Tagen (Versuch III, Meerschweinchen 4).

Von den 5 Kontrollmeerschweinchen wurden 2 am 1. Dezember 1907, eines am 1. Januar 1908 getötet, die übrigen am 4. bzw. 15. Februar (Versuch III, Kontrollmeerschweinchen 1, 2, 3, 4 und 5).

* * *

Von jedem der 23 Meerschweinchen habe ich die Muskeln einer sorgfältigen Prüfung unterzogen. Obwohl ich es nicht unterlassen habe, meine Aufmerksamkeit auf die Muskeln der verschiedenen Körperteile zu richten, so habe ich doch bei sämtlichen Tieren vorzugsweise die Pectorales ins Auge gefaßt, um dadurch bei den Untersuchungen gleichmäßig vorzugehen und eine größere Sicherheit in der Beurteilung der Resultate zu gewinnen.

Die Muskeln wurden sowohl in frischem Zustande, und zwar nach vorheriger Zerzupfung in physiologischer Kochsalzlösung, als auch an Schnitten nach vorheriger Einbettung in Paraffin, selten in Celloidin, untersucht.

Zur Ausführung dieses letzteren, in jedem einzelnen Falle angewandten Verfahrens wurden die ganzen, sorgfältig von ihren Insertionsstellen abgelösten Pectorales auf Korkplatten ausgebreitet und auf diesen bei allen Uebergangsmedien mittelst Igelstacheln festgehalten. Dadurch bekommt man Muskelplatten, die, noch weiter geteilt und eingebettet — und zwar mit Vorsicht, um ein Zusammenrollen des Stückes zu verhüten — eine

weite Fläche darbieten, und die Herstellung von 1 qcm und darüber breiten Schnitten gestatten.

Selbstverständlich muß — auch wegen der Beschaffenheit des Gewebes — die Einbettung eine recht sorgfältige sein; als recht vorteilhaft hat sich hierbei in vielen Fällen das von Heidenhain empfohlene Verfahren mit Schwefelkohlenstoff erwiesen.

Beim ersten Meerschweinchen von Versuch I habe ich als Fixierungsflüssigkeiten absoluten Alkohol, Sublimat-Alkohol-Eisessig, Zenkersche Flüssigkeit, bei allen übrigen ausschließlich absoluten Alkohol angewendet, der mir in bezug auf die in vorliegender Mitteilung besprochenen Befunde vortreffliche Resultate geliefert hat.

Die Schnitte wurden gewöhnlich mit Hämalaun gefärbt, vielfach wurde auch noch eine zweite Gegenfärbung vorgenommen.

* * *

Bei den zeitweise mit Muskeln gefütterten Meerschweinchen — an welchen Tagen dies geschehen, habe ich bereits oben angegeben — habe ich in den Muskelfasern des *M. pectoralis* ein Sarkosporid nachweisen können, das meines Wissens bisher noch nicht beschrieben worden ist.

Dieses Sarkosporid weist Merkmale auf, die man als konstante bezeichnen kann.

Der Parasit ist elliptisch bzw. länglich gestaltet; seine große Achse ist stets zur Längsachse der Muskelfaser parallel, die Enden sind in der Regel abgerundet; er kommt mehr oder weniger reichlich in den einzelnen Tieren vor und ist stets in der gestreiften Muskelfaser vorhanden (siehe Fig. 1, 2 u. 3).

Gewöhnlich enthält eine Muskelfaser einen einzigen Parasiten, manchmal habe ich jedoch auch deren zwei in demselben Elemente, dicht hintereinander angetroffen; in einem solchen Falle zeigen sich die Berührungsenden nicht abgerundet, sondern etwas abgeplattet (siehe Fig. 3).

Die Durchmesser der parasitären Schläuche schwanken innerhalb relativ weiter Grenzen; an den Schnitten habe ich Formen mit einem nur etwas über $40\ \mu$ betragenden Längsdurchmesser, andere wieder mit einem solchen von nahezu $100\ \mu$ beobachtet. Bei meinen Präparaten bleibt es aber größtenteils bei 70 — $90\ \mu$. Ein einziges Mal habe ich einen Maximaldurchmesser von ungefähr $140\ \mu$ angetroffen.

Verschiedene, bei mehreren Exemplaren vorgenommene Messungen des Querdurchmessers berechtigen zu dem Schluß, daß dieser letztere zwischen 15 und $30\ \mu$ und noch mehr schwanken kann.

Ich glaube jedoch kaum, daß diesen Zahlen ein absoluter Wert zukommt, da es nicht ausgeschlossen erscheint, daß auf die Durchmesser und folglich auch auf die an den Schnitten mehr oder weniger elliptische bzw. rundliche Gestalt der Parasiten nicht etwa auch der in dem Augenblicke der Fixierung höhere oder geringere Ausdehnungsgrad der Muskelfaser einen Einfluß ausübt.

Immerhin beweisen diese Zahlen, daß bei 9 der von mir untersuchten Meerschweinchen stets ein Sarkosporid angetroffen wurde, dessen Größe — will man den in diesem Zeitpunkt erreichten Grad der Entwicklung in Betracht ziehen — eine sehr geringe ist, namentlich im Vergleich zu jener, welche andere Sarkosporidien, wie z. B. das unter dem Namen *Sarcocystis muris* bekannte, auf der gleichen Stufe aufweisen.

Die von mir beim Meerschweinchen angetroffenen parasitären Gebilde zeigen sich denn auch mit Sporen angefüllt; es sind dies Sarkosporidien, die den im Inneren der gestreiften Muskelfaser sich abspielenden Teil ihres Zyklus vollendet haben.

Die Sporen sind bei jedem Individuum sehr zahlreich und so dicht aneinander gelagert, daß es in der Regel sehr schwer gelingt, ihre Form und Größe genau zu bestimmen. Manchmal indessen machen sich auch an den Schnitten — höchst wahrscheinlich infolge mechanischer Einwirkung — kleine, in unmittelbarer Nähe eines Parasiten gelagerte, oder auch der Innenfläche der Membran — wenn dieselbe gespannt und aus ihrer normalen Lage gebracht ist — anliegende Haufen von vereinzelter Sporen bemerkbar. Es läßt sich in solchen Fällen feststellen, daß die Sporen allerdings sehr klein sind, aber die sichelförmige Gestalt, das Aussehen und die typischen Eigenschaften der Sporen der übrigen Sarkosporidien besitzen (siehe Fig. 4).

Ein jeder dieser Sichelkeime — deren maximaler Abstand der beiden äußersten Punkte voneinander, je nachdem das Gebilde stärker oder schwächer gekrümmt erscheint, zwischen 3 und 5 μ schwankt — enthält einen mit Hämatoxylin färbbaren Kern.

Bei schwacher Vergrößerung erscheint der Kern als ein kleines Körnchen, dessen Maximaldurchmesser ca. 1 μ beträgt; ist die Vergrößerung eine stärkere, so sieht man, daß derselbe gewöhnlich keine homogene Masse darstellt, sondern in seinem zentralen Teil oft eine lichtere Partie aufweist. Bei den isolierten Sporen, die eine genauere Feststellung ihrer Eigentümlichkeiten gestatten, sieht man auch mitunter, daß der Kern sich aus zwei getrennten Partien zusammensetzt, d. h. aus etwas länglich gestalteten, zueinander bezw. zur großen Sporenachse parallelen Haufen besteht. Diese Anordnung erinnert — wenn man hierbei die Verschiedenheit der Untersuchungsmethoden berücksichtigt — an das verschiedenartige, eigentümliche Aussehen, das bei den nach Romanowsky gefärbten Präparaten das Chromatin der Sarcocystis-Sporen der Ratten und der Sarcocystis Bertrami des Pferdes annehmen; eben dieses Aussehen habe ich ganz besonders beschrieben¹⁾.

Bei den zahlreichen, von mir untersuchten Parasiten zeigen die Kerne der Sporen durchweg dieselbe Größe; in ihrer Gesamtheit vergleichen sie dem Körper — nach erfolgter Färbung — ein eigentümliches, feinkörniges Aussehen, welches den Nachweis des Parasiten an Schnitten auch bei Anwendung schwacher Linsensysteme ermöglicht.

Die Sichelkeime sind in eine zarte Membran eingeschlossen und eingehüllt, die als feine, steife Linie die Umrisse des Parasiten scharf bezeichnet und denselben von den umliegenden Muskelfibrillen abgrenzt.

An der Membran ist es mir niemals möglich gewesen, irgendwelche Struktur festzustellen, noch sonst wahrzunehmen, ob denn von ihrer Innenfläche Fäden zur Bildung des bekannten Kammersystems im Innern des Sarkosporidien abgehen.

Nur selten ist es mir gelungen, diesen interessanten Mikroorganismus im frischen Zustande zu beobachten; andererseits bestätigt diese Untersuchung den bei gefärbten Schnitten erhobenen Befund aufs vollkommenste.

In frischem Zustande erscheinen die Parasiten als länglich bezw. elliptisch, eiförmig gestaltete Gebilde mit scharfen, regelmäßigen Umrissen, ohne irgendwelche besondere Struktur der Membran. Die Gebilde

1) Negri, A., Beobachtungen über Sarkosporidien. [Erste Mitteilung.] (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLVII. 1908. Heft 1.)

sind lichtbrechend und im Innern feinkörnig. In einem Falle, wo infolge eines mechanischen Insults die Membran durchgerissen wurde, habe ich das Heraustreten von kleinen, typisch geformten Sporen beobachten können, deren jede einen kleinen, einem der Enden etwas näher gelegenen, hellen Raum zeigte.

Übersichtstabelle der Versuche

| Fortachr.
Zahl der
Versuche | Verwendete
Meer-
schweinchen | Meer-
schweinchen
durch Sarko-
sporidien
infizierte
Muskeln ge-
füllt | | Meer-
schweinchen
als Kontrolle | | Tag des Ge-
nusses der
infizierten
Muskeln | Todeszeit des
Tieres | Tage, die
nach dem
ersten Ge-
nuss ver-
strichen
sind | Sarkosporidien-
befund | |
|-----------------------------------|------------------------------------|---|--|---|--|---|-------------------------|--|--------------------------------------|------------------------|
| | | Her-
kunft | Ge-
samt-
zahl | Ge-
samt-
zahl | Ord-
nungs-
zahl | | | | Ge-
samt-
zahl | Ord-
nungs-
zahl |
| I | Pro-
vinz
Brescia | 9 | 4
$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \\ 4 \end{array} \right.$ | 5
$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \\ 4 \\ 5 \end{array} \right.$ | 1907 18., 25. März
3., 15., 18.,
29. April
6. Mai | 15. Mai 1907
4. Juni
7. „
1. Juli
18. März
25. Mai
22. Juni
8. Juli
10. „ | 58
78
81
104 | positiv
„
„
negativ | „
„
„
„
„
„
„
„ | |
| II | Um-
gebung
von
Pavia | 5 | 3
$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \end{array} \right.$ | 2
$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \end{array} \right.$ | 1907 26. März
15., 16., 18.,
29. April
6. Mai | 29. Mai 1907
23. Juni
7. Juli
1. Mai
25. Juli | 64
89
103 | positiv
negativ
positiv | negativ
„ | |
| III | Zina-
800
(Prov.
Pavia) | 9 | 4
$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \\ 4 \end{array} \right.$ | 5
$\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \\ 4 \\ 5 \end{array} \right.$ | 1907 7., 8., 11.,
12., 24., 30. Dez. | 26. Jan. 1908
28. „
31. „
4. Febr.
1. Dez. 1907
1. Jan. 1908
4. Febr.
15. „ | 50
52
55
59 | positiv
negativ
positiv
„ | negativ
„
„
„ | |

Dessenungeachtet erscheint eine Wiederholung dieser meiner an diesem Sarkosporid gemachten Beobachtungen in frischem Zustande wünschenswert, da die Zahl derselben eine nur geringe gewesen. Schuld daran sind wohl die Schwierigkeiten einer solchen Untersuchung; Schwierig-

keiten, welche einerseits auf die kleinen Dimensionen des Mikroorganismus, andererseits auf die geringe Anzahl, in der derselbe bei den Meerschweinchen oft auftritt, zurückzuführen sind.

Um nur das Festgestellte zu berücksichtigen, will ich erwähnen, daß, während ich bei Versuch I Meerschweinchen 1 nahezu an sämtlichen Schnitten der *M. pectorales* die soeben beschriebenen Schläuche angetroffen, bei den übrigen drei (Versuch I, Meerschweinchen 2, 3, 4) die Untersuchung eine sehr mühevoll gewese ist, und erst an vielen Zehen von breiten, 1 qcm großen Schnitten ist es mir möglich gewesen, bei jedem Meerschweinchen spärliche Parasiten zu Gesicht zu bekommen.

In Versuch II Meerschweinchen 1 habe ich bei 60 großen Schnitten im ganzen nur einen Parasiten vorgefunden, bei Meerschweinchen 3 im ganzen drei bis vier bei 80 Schnitten.

In Versuch III Meerschweinchen 1 waren die Parasiten in sehr spärlicher Anzahl vorhanden; minder häufig bei Meerschweinchen 3; ziemlich zahlreich bei Meerschweinchen 4.

Bei Meerschweinchen 2 Versuch II und bei Meerschweinchen 2 Versuch III wurde der Mikroorganismus vergeblich aufgesucht, ungeachtet der sorgfältigsten Beobachtung an den nahezu vollständig zerschnittenen Pectorales und trotzdem ich recht fleißig eine weit größere Anzahl von Schnitten untersucht habe, als jene, die mir zum Nachweis des Parasiten bei den diesen letzteren am spärlichsten aufweisenden Meerschweinchen nötig waren.

Gleichfalls negativ ist das beharrlichste, mühevollste Suchen nach Sarkosporidien bei sämtlichen 12 Kontrollmeerschweinchen (5 von Versuch I, 2 von Versuch II, 5 von Versuch III). Während bei den Meerschweinchen, welche die durch *Sarcocystis muris* infizierten Muskeln genossen hatten, die Untersuchung in der Regel auf die Brustmuskeln sich beschränkt hatte, wurde dieselbe bei den Kontrolltieren auch auf die Muskeln anderweitiger Körperteile (Muskeln der Abdominalgegend, des Rückens, der Oberschenkel usw.) ausgedehnt; trotzdem ist das Ergebnis ein stets negatives gewesen (siehe Tabelle p. 618).

* * *

Aus dem bisher Dargelegten geht nun hervor, daß im ganzen Beobachtungen an 23, auf 3 verschiedene Gruppen verteilten Meerschweinchen angestellt wurden.

Jede Gruppe bestand aus Individuen von gleicher Züchtung, gleichem Alter und Gewicht, die stets beisammen und in gleicher Weise gelebt und dieselbe Nahrung bekommen hatten.

Von den verschiedenen Gruppen aber genoß ein Teil der Tiere zu wiederholten Malen durch *Sarcocystis muris* infizierte Muskeln; es ist dies das einzige Moment, das solche Tiere von den übrigen als Kontrolle aufgesparten derselben Gruppe differenziert.

Von den 11 mit Fleisch gefütterten Meerschweinchen beherbergten 9 zu verschiedenen Zeiten vom Tage des ersten Genusses an getötete in bald größerer, bald geringerer Menge ein eigentümliches Sarkosporid.

Dasselbe weist in allen Fällen die nämlichen Merkmale, und zwar auf gleicher Entwicklungsstufe, auf, so z. B. elliptische bzw. eiförmige Cysten von geringer Größe (40—100 μ lang, ausnahmsweise noch mehr, und 25—30—35 μ Breite) mit gewöhnlich abgerundeten Enden und äußerst zarter Membran, und mit einer großen Anzahl sichelförmiger Sporen gefüllt, deren jede mit einem Kern versehen ist.

Bei den übrigen 2, mit infizierten Muskeln gefütterten und den 12 als Kontrolle benutzten Meerschweinchen ergab die Untersuchung auf Sarkosporidien — sowohl auf vollkommen ausgebildete als auch auf anderen Entwicklungsstufen befindliche Formen — ein durchweg negatives Resultat.

Auf Grund dieses Befundes und in Anbetracht der nunmehr feststehenden Tatsache, daß bei den Muriden der Genuß infizierter Muskeln die Sarkosporidiose erzeugt, ist man — meinem Dafürhalten nach — zur Annahme berechtigt, daß bei Meerschweinchen das Auftreten des beschriebenen Sarkosporidien mit dem Genuß von durch *Sarcocystis muris* infizierten Muskeln zusammenhängt.

Daß die Infektion auf einen solchen Zusammenhang zurückzuführen ist, halte ich um so mehr für wahrscheinlich, als der wohl mögliche Einwand, es könnte das Auftreten des Mikroorganismus nicht durch den Genuß der Muskeln, sondern durch anderweitige Momente, bezw. durch eine bei dem betreffenden Tiere bereits präexistierende Infektion bedingt sein, mit Rücksicht auf das Ergebnis der bei den zahlreichen Kontrollmeerschweinchen angestellten Untersuchungen hinfällig wird. Bei diesen Kontrolltieren — mögen nun dieselben zu Anfang des Versuchs oder nachdem letzterer bereits im Gang war oder am Ende desselben, getötet werden, oder schließlich auch längere Zeit nach dem Tode der künstlich infizierten Tiere — wurde niemals ein Sarkosporid angetroffen.

Es möge mir an dieser Stelle gestattet sein, auf die Zuverlässigkeit des von mir befolgten Verfahrens hinzuweisen: Anstellen von sorgfältigen Vergleichen zwischen den einzelnen Tieren derselben Rasse, desselben Alters und von derselben Lebensweise. Man erlangt dadurch unzweifelhaft eine größere Sicherheit der Beurteilung, als wenn man zu Beginn der Untersuchung den einzelnen Versuchstieren je ein Muskelstückchen entnimmt. Bei meinen Versuchen würde ich mich dahin aussprechen, daß im Hinblick auf die mitunter wahrhaft geringe Zahl von Schläuchen dieses letztere Verfahren aufzugeben ist.

Ich verhehle es mir nicht, daß, um mit Sicherheit behaupten zu können, daß die Kontrollmeerschweinchen keine Sarkosporidien beherbergten, eine genaue Durchmusterung sämtlicher Muskeln jedes einzelnen Tieres erforderlich gewesen wäre.

Von der praktischen Unmöglichkeit abgesehen, bleibt es noch immer fraglich, ob denn eine solche Untersuchung unerlässlich gewesen.

Aus dem bisher Gesagten ergibt sich nun, daß manche der mit Fleisch gefütterten Meerschweinchen äußerst spärliche Parasiten in den *M. pectorales* aufwiesen, bei anderen waren jedoch diese Protozoen in ziemlich reichlicher Menge vorhanden. Ich halte dafür, daß, wenn eine natürliche Infektion vorgelegen, man bei nahezu sämtlichen Kontrolltieren — gleichviel ob mehr oder weniger zahlreich — die charakteristischen Schläuche hätte vorfinden müssen. Vielmehr — es sei dies nochmals betont — fehlten letztere gänzlich und zwar nicht nur in den *Pectorales*, sondern auch in jenen aller übrigen Abschnitte.

Auch darf der Umstand nicht außer acht gelassen werden, daß beim Meerschweinchen — das ja eines der am meisten benutzten Versuchstiere ist — niemals Sarkosporidien beschrieben worden sind. Allerdings kommt diesem Umstande kein absoluter Wert zu; immerhin liefert derselbe aber einen weiteren Beleg gegen die Annahme einer natürlichen Infektion.

Beim Meerschweinchen erzeugt nun also der wiederholte Genuß von durch entwickelte Stadien von *Sarco-*

cystis muris reichlich infizierten Muskeln eine Sarkosporidiose.

Bei dieser Tierspecies erscheint jedoch der Parasit nicht, wie bei der Gattung *Mus*; er ist viel kleiner, und die Verminderung der Durchmesser bezieht sich sowohl auf den gesamten Körper als auch auf die einzelnen Sporen.

Wahrscheinlich findet nicht das Protozoon in der Muskelfaser des Meerschweinchens jene für seine Entwicklung günstigen Bedingungen, die ihm die Muskelfaser der Maus darbietet; diesem Umstande ist vielleicht die geringe Größe und die rasche Evolution des Mikroorganismus zuzuschreiben. Bei *Mus decumanus* var. *albinus* habe ich — analog dem bei *Mus musculus* erhobenen Befunde — erst etwa 50 Tage nach dem Fleischgenuß die jüngsten Formen des Parasiten, und zwar auf einer frühzeitigen Entwicklungsstufe, angetroffen; zu dieser Zeit sind dagegen beim Meerschweinchen bereits reife Schläuche vorhanden, bei denen die Dimensionen der kleinen Kerne zu der Annahme berechtigenden, daß die Sporenbildung in vollständiger Weise vor sich gegangen ist.

Während nun bei *Mus* das Wachstum des Protozoons progressiv bis zur bekannten Länge — einer riesengroßen im Vergleich zur primären — fortschreitet, geht beim Meerschweinchen die Größe der Parasiten nicht über die oben angegebenen Grenzen hinaus, und dies durch einen — bei meinen Versuchen — zwischen 50 und 104 Tagen schwankenden Zeitraum nach dem Genuß des infizierenden Materials.

Wie bereits gesagt, muß die Fütterung womöglich in kurzen Abständen wiederholt werden, eine Bedingung, die ich auch aus anderen Beweggründen bei den ersten zwei Versuchen zufällig erfüllt hatte und nun auf Grund der Ergebnisse weiterer noch zu ergänzenden Untersuchungen als nötig erachten mochte. Auch dieser Umstand erscheint mir als ein weiterer Beweis für die geringe Rezeptivität des Meerschweinchens der Infektion gegenüber.

* * *

Meine Untersuchungen — die ohne Zweifel ihre volle Bestätigung erlangen werden, vorausgesetzt, daß man bei Wiederholung derselben in gleicher Weise verfahren wird, wie ich — dürften meiner Ansicht nach von einem allgemeinen Standpunkte aus manches Interesse darbieten.

Die von mir erzielten Resultate beweisen nun zunächst, daß nicht nur bei den Muriden, sondern auch bei anderen Säugetieren die Sarkosporidieninfektion auf dem Wege des Magendarmkanals zur Ausbildung gelangen kann, gleichviel auf welche Art und Weise und auf welchem Wege der Parasit die Muskelfaser erreichen mag.

Auch beweisen diese Resultate, daß, wenn ein bei einem Säugetier mit bestimmten Charakteren auftretendes Sarkosporid in einer anderen Säugetierspecies zur Entwicklung kommt, es so verschiedene morphologische Merkmale annehmen kann, daß anfangs die Vermutung nahe liegt, es handle sich um andersartige Sarkosporidien.

Und eben diesen Eindruck bekam ich — um die Wahrheit zu gestehen — als ich die Parasiten der zu Versuch I gehörenden Meerschweinchen gewahrte; allerdings mußte ich später im Hinblick auf das regelmäßige Auftreten des Mikroorganismus bei fast sämtlichen, mit Fleisch gefütterten Meerschweinchen sowie andererseits auf das beständige Fehlen desselben bei denen, welche diese Nahrung nicht bekommen hatten, meine Anschauung ändern.

Bei den übrigen 2, mit infizierten Muskeln gefütterten und den 12 als Kontrolle benutzten Meerschweinchen ergab die Untersuchung auf Sarkosporidien — sowohl auf vollkommen ausgebildete als auch auf anderen Entwicklungsstufen befindliche Formen — ein durchweg negatives Resultat.

Auf Grund dieses Befundes und in Anbetracht der nunmehr feststehenden Tatsache, daß bei den Muriden der Genuß infizierter Muskeln die Sarkosporidiose erzeugt, ist man — meinem Dafürhalten nach — zur Annahme berechtigt, daß bei Meerschweinchen das Auftreten des beschriebenen Sarkosporidien mit dem Genuß von durch *Sarcocystis muris* infizierten Muskeln zusammenhängt.

Daß die Infektion auf einen solchen Zusammenhang zurückzuführen ist, halte ich um so mehr für wahrscheinlich, als der wohl mögliche Einwand, es könnte das Auftreten des Mikroorganismus nicht durch den Genuß der Muskeln, sondern durch anderweitige Momente, bezw. durch eine bei dem betreffenden Tiere bereits präexistierende Infektion bedingt sein, mit Rücksicht auf das Ergebnis der bei den zahlreichen Kontrollmeerschweinchen angestellten Untersuchungen hinfällig wird. Bei diesen Kontrolltieren — mögen nun dieselben zu Anfang des Versuchs oder nachdem letzterer bereits im Gang war oder am Ende desselben, getötet werden, oder schließlich auch längere Zeit nach dem Tode der künstlich infizierten Tiere — wurde niemals ein Sarkosporid angetroffen.

Es möge mir an dieser Stelle gestattet sein, auf die Zuverlässigkeit des von mir befolgten Verfahrens hinzuweisen: Anstellen von sorgfältigen Vergleichen zwischen den einzelnen Tieren derselben Rasse, desselben Alters und von derselben Lebensweise. Man erlangt dadurch unzweifelhaft eine größere Sicherheit der Beurteilung, als wenn man zu Beginn der Untersuchung den einzelnen Versuchstieren je ein Muskelstückchen entnimmt. Bei meinen Versuchen würde ich mich dahin aussprechen, daß im Hinblick auf die mitunter wahrhaft geringe Zahl von Schläuchen dieses letztere Verfahren aufzugeben ist.

Ich verhehle es mir nicht, daß, um mit Sicherheit behaupten zu können, daß die Kontrollmeerschweinchen keine Sarkosporidien beherbergten, eine genaue Durchmusterung sämtlicher Muskeln jedes einzelnen Tieres erforderlich gewesen wäre.

Von der praktischen Unmöglichkeit abgesehen, bleibt es noch immer fraglich, ob denn eine solche Untersuchung unerlässlich gewesen.

Aus dem bisher Gesagten ergibt sich nun, daß manche der mit Fleisch gefütterten Meerschweinchen äußerst spärliche Parasiten in den *M. pectorales* aufwiesen, bei anderen waren jedoch diese Protozoen in ziemlich reichlicher Menge vorhanden. Ich halte dafür, daß, wenn eine natürliche Infektion vorgelegen, man bei nahezu sämtlichen Kontrolltieren — gleichviel ob mehr oder weniger zahlreich — die charakteristischen Schläuche hätte vorfinden müssen. Vielmehr — es sei dies nochmals betont — fehlten letztere gänzlich und zwar nicht nur in den *Pectorales*, sondern auch in jenen aller übrigen Abschnitte.

Auch darf der Umstand nicht außer acht gelassen werden, daß bei Meerschweinchen — das ja eines der am meisten benutzten Versuchstiere ist — niemals Sarkosporidien beschrieben worden sind. Diesem Umstande kein absoluter Wert zu; immerhin ein weiterer Beleg gegen die Annahme.

Beim Meerschweinchen ergab die Untersuchung des Genuß von durch ein

Vom systematischen Standpunkte aus verdient dieser Umstand Beachtung. Bei diesen, noch so wenig bekannten Protozoen lassen sich auf Grund morphologischer Charaktere und je nach dem beherbergenden Tiere verschiedene Arten unterscheiden.

So zählt Labbé¹⁾ 9 sichere und 16 unsichere Arten.

Dürfen wir nun auf Grund der bisherigen Erfahrungen eine solche Klassifikation als eine zutreffende gelten lassen?

Damit will ich aber nur einen mir als gerechtfertigt erscheinenden Zweifel zum Ausdruck bringen und weiter nichts als eine Frage stellen, die zum Gegenstand künftiger Untersuchungen wird werden können.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Parasit in einem Schnitt eines Brustmuskels des Meerschweinchens No. 4, Versuch III.

Färbung: Hämalan-Eosin. Obj. 5. Ok. 4, Koristka.

Fig. 2. Parasit in einem Schnitt eines Brustmuskels des Meerschweinchens No. 4, Versuch III.

Färbung: Hämalan-Eosin. Obj. 4. Ok. 4, Koristka.

Fig. 3. Zwei Parasiten in einer Muskelfaser, Schnitt eines Brustmuskels des Meerschweinchens No. 4, Versuch I.

Färbung: Hämalan-Eosin. Obj. 5. Ok. 4, Koristka.

Fig. 4. Stark vergrößerte peripherische Partie eines Parasiten des Meerschweinchens No. 1, Versuch I. Die in der Zeichnung rechts abgebildeten Sporen sind noch in der Membran enthalten; jene links sind ausgetreten.

Färbung: Hämalan-Orange.

Obj. 1,5 mm. Apert. 1,30 homog. Immersion, Zeiß. Komp.-Ok. 8.

Sämtliche Figuren wurden mit Hilfe der „Camera lucida“ mod. Apáthy gezeichnet, Blatt in der Höhe des Präparats, Tubuslänge 160 mm.

Nachdruck verboten.

Wutinfektion und antirabische Immunisierung auf endorektalem Wege.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität zu Sassari.]

Zweite Mitteilung.

Von Prof. Claudio Fermi.

Nachdem ich in zwei verschiedenen Arbeiten die Möglichkeit nachgewiesen hatte, Muriden per os mit Tollwut zu infizieren und gegen dieselbe zu immunisieren, schien es mir von Interesse, festzustellen, ob es möglich wäre, diese Tiere auch auf endorektalem Wege zu infizieren und zu immunisieren. In einer ersten Mitteilung hatte ich das Studium dieser Frage bei Muriden begonnen, während Remlinger seinerseits einige diesbezügliche Versuche an Kaninchen vorgenommen hatte.

Versuchsplan.

A. Infektion auf endorektalem Wege mit fixem Virus.

I. Versuche an Ratten.

II. Versuche an Kaninchen.

III. Versuche an Meerschweinchen.

IV. Versuche an Hunden.

V. Versuche an Katzen.

1) Labbé, A., — Tierreich. 5. Lief. Sporozoa 1899.

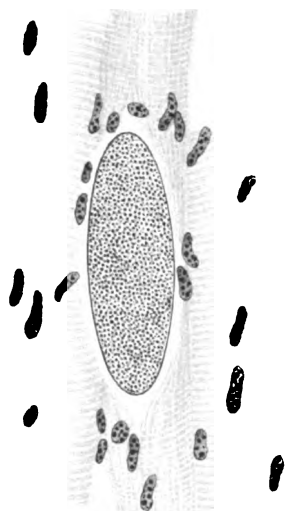


Fig. 1.



Fig. 2.

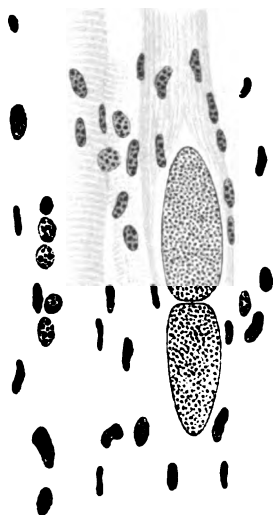


Fig. 3.

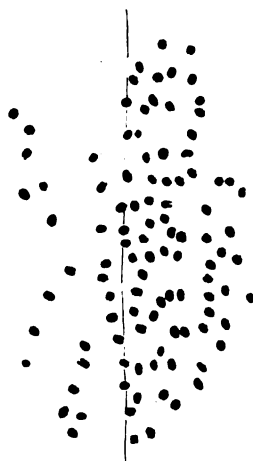


Fig. 4.

B. Immunisierung auf endorektalem Wege.

- I. Subkutane Infektion mit Straßenvirus und nachfolgender Immunisierung auf endorektalem Wege.
 - a) Mittels einer Emulsion von normaler Nervensubstanz.
 - b) Mittels einer Emulsion von fixem Virus.
- II. Immunisierung auf endorektalem Wege mit nachfolgender subkutaner Straßenvirusinfektion.
 - a) Mittels einer Emulsion von normaler Nervensubstanz.
 - b) Mittels einer Emulsion von fixem Virus.
- C. Immunisierung auf endorektalem Wege mit nachfolgender endorektaler Infektion mit fixem Virus.

A. Infektion auf endorektalem Wege mit fixem Virus.

I. Versuche an Ratten.

Versuch 2. Dez. 1907. 9 weiße Ratten erhalten täglich 2 Einspritzungen auf endorektalem Wege, jede von 10 ccm einer Emulsion vom Hirn eines wutkranken Kaninchens, zu 10 Proz. in physiologischer Lösung.

Resultat: 6 Ratten sterben an der Tollwut, die anderen 3 bleiben am Leben.

Also die auf endorektalem Wege mit fixem Virus infizierten Ratten erkrankten im Verhältnis von 6:9.

II. Versuche an Kaninchen.

Versuch 3. Febr. 08. 5 Kaninchen erhalten täglich 7 Tage lang 2 Einspritzungen, jede von 50 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 30 Proz. Im ganzen 350 ccm.

Resultat: 2 Tiere weisen am 9. Febr. 7 Uhr vorm. typische Lähmung auf und sterben am 10. Febr. 7 Uhr vorm.; 2 andere weisen am 10. Febr. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am selben Tage 6 Uhr abends, d. h. alle 4 nach 7 Tagen; das 5. Tier bleibt am Leben. Das Verhalten der auf endorektalem Wege infizierten Kaninchen ist etwas verschieden von dem der sub duro infizierten, denn neben der vollständigen Lähmung des Hinterviertels bleibt der vordere Teil des Körpers lange gesund und das Auge lebhaft.

Versuch 6. Febr. 08. 3 jungen Kaninchen wird jede Woche (am 6., 12, 18., 24. Febr., 1., 7. und 14. März) ein Kaninchenhirn (Gewicht ungefähr 9 g) von einem an fixem Virus gestorbenen Kaninchen eingespritzt (in 10 ccm destilliertem Wasser). Dann werden die Tiere in die Hornhaut mit fixem Virus infiziert.

Resultat: 2 der Tiere weisen am 30. März 5 Uhr abends Lähmung auf und sterben am 23. März 11 Uhr vorm., und das 3. weist am 26. März 7 Uhr nachm. Lähmung auf und stirbt am 27. März 4 Uhr nachm.

Also die auf endorektalem Wege mit fixem Virus infizierten Kaninchen erkrankten im Verhältnis von 7:9.

III. Versuche mit Meerschweinchen.

Versuch 20. Febr. 08. 5 Meerschweinchen erhalten täglich 7 Tage lang 2 Einspritzungen auf endorektalem Wege, jede von 10 ccm einer Emulsion von frischem fixen Virus zu 30 Proz.

Resultat: 1 der Tiere zeigt am 26. Febr. 7 Uhr abends Lähmung und stirbt am 27. Febr. 7 Uhr vorm., d. h. 7 Tage nach der ersten Einspritzung, 3 andere sind am 27. Febr. vorm. 7 Uhr gelähmt und eines stirbt am 28. Febr. 7 Uhr abends, die beiden anderen am 29. Febr. 7 Uhr vorm., d. h. ungefähr 9 Tage nach der ersten Injektion, das letzte ist am 4. März vorm. 7 Uhr gelähmt und verendet am 5. März, d. h. 14 Tage nach der ersten Einspritzung.

Also die auf endorektalem Wege mit fixem Virus infizierten Meerschweinchen erkrankten im Verhältnis von 5:5.

IV. Versuche an Hunden.

Versuch 20. Febr. 08. 2 Hunde erhalten täglich 30 Tage lang eine Einspritzung auf endorektalem Wege von 50 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 10 Proz. (im ganzen 1500 ccm).

Resultat: Die Tiere überleben.

Am 20. März werden die Tiere subkutan mit fixem Virus infiziert.

Resultat: 1 der Tiere zeigt am 28. März 1 Uhr nachm. Lähmungen und stirbt am 29. März 7 Uhr vorm., d. h. 9 Tage nach der Infektion. Das andere Tier überlebt.

Also keiner der 2 auf endorektalem Wege mit fixem Virus infizierten Hunde erkrankte an Tollwut.

V. Versuche an Katzen.

Versuch 21. Febr. 08. Eine Katze bekommt täglich 30 Tage lang eine Einspritzung auf endorektalem Wege von 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 10 Proz. (im ganzen 300 ccm).

Resultat: Das Tier überlebt.

Am 23. März wird das Tier subkutan mit fixem Virus infiziert.

Resultat: Das Tier weist am 28. März 1 Uhr nachm. Lähmungen auf und stirbt am 29. März 7 Uhr vorm., d. h. 6 Tage nach der Infektion.

Versuch 11. April 08. 2 junge Katzen (Gewicht 420 g) erhalten täglich 7 Tage lang eine Einspritzung auf endorektalem Wege von 5 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 10 Proz.

Resultat: 1 der Tiere zeigt am 18. April 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 19. April 11 Uhr vorm.; das andere Tier zeigt am 21. April 7 Uhr nachm. Lähmung auf und stirbt am 23. April 11 Uhr vorm.

Also beide auf endorektalem Wege mit fixem Virus infizierten jungen Katzen erkrankten an Tollwut. Sie starben sogar 7—10 Tage nach der 1. oder 2. Einspritzung. Eine alte Katze dagegen überlebt.

Schlußfolgerung.

Aus diesen Versuchen ergibt sich:

1) Daß man bei Ratten, Kaninchen und Meerschweinchen die Wutinfektion durch fixes Virus auf endorektalem Wege, und zwar im Verhältnis von ungefähr 60 Proz. bei den Ratten, von 80 Proz. bei den Kaninchen und von 100 Proz. bei den Meerschweinchen erreicht hat. Das Meerschweinchen wäre somit am empfindlichsten der endorektalen Infektion mit fixem Virus gegenüber.

2) Daß man diese Infektion in mehreren Fällen nach der ersten endorektalen Einspritzung des fixen Virus ohne Verspätung bezüglich der Inkubationsperiode wahrgenommen hat.

3) Daß die Infektion bei intakter Schleimhaut, ohne irgendwelche Läsion derselben, während der Einspritzung aufgetreten ist, was somit gegen die Meinung Remlingers ein Beweis dafür ist, daß es sich gerade um eine Wutinfektion durch die gesunde Darmschleimhaut hindurch handelt.

4) Daß bis jetzt Hunde und alte Katzen negative Resultate gegeben haben; empfindlich dagegen zeigten sich die jungen Katzen.

B. Immunisierung der Muriden auf endorektalem Wege.

I. Subkutane Infektion mit Straßenvirus und nachfolgender Immunisierung auf endorektalem Wege.

a) Mittels einer Emulsion von normaler Nervensubstanz.

Versuch 5. Aug. 07. 10 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 10 ccm einer Emulsion von frischem, gesunden Lammhirn zu 30 Proz in physiologischer Lösung; im ganzen erhält jedes Tier 300 ccm.

Resultat: Die 10 Ratten werden am 19. Aug. 7 Uhr vorm. gelähmt gefunden. Von diesen sterben 5 am 20. Aug. 9 Uhr vorm., die anderen am 21. Aug. 7 Uhr vorm., d. h. nach 15 resp. 16 Tagen.

Kontrollversuch 5. Aug. 07. 2 weiße Ratten werden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat: Die beiden Tiere werden am 19. Aug. 7 Uhr vorm. gelähmt vorgefunden und sterben am gleichen Tage 4 Uhr nachm.

b) Mittels einer Emulsion von fixem Virus.

Versuch 5. Aug. 07. 10 weiße, mit Straßenvirus subkutan infizierte Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 Einspritzungen von je 10 ccm einer 30-proz. Emulsion von frischem Hirn eines wutkranken Kaninchens in sterilisiertem Wasser, im ganzen erhält jedes Tier 300 ccm.

Resultat: 7 Ratten werden am 19. Aug. 7 Uhr vorm. gelähmt gefunden und sterben am 20. Aug., 3 um 7 Uhr vorm. und 4 um 10 Uhr vorm. 2 andere weisen am 15. Okt. vorm. 7 Uhr Lähmung auf und sterben am selben Tage 8 Uhr abends. Nur 1 bleibt am Leben.

Also alle Ratten, die mit Straßenvirus subkutan infiziert und dann auf endorektalem Wege mit normaler oder Wutnervenssubstanz immunisiert wurden, starben alle an Tollwut.

II. Immunisierung auf endorektalem Wege und nachfolgende subkutane Straßenvirusinfektion.

a) Mittels einer Emulsion von normaler Nervensubstanz.

Versuch 2. Dez. 07. 10 weiße Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 endorektale Einspritzungen von je 10 ccm einer Emulsion von gesundem, frischen Lammhirn zu 10 Proz. in sterilisierter physiologischer Lösung; im ganzen erhält jedes Tier 300 ccm. Hierauf werden 5 dieser Ratten subkutan mit Straßenvirus infiziert, die anderen 5 nach 5 Tagen.

Resultat: 1 der Ratten stirbt 1 Tag nach der Infektion infolge unbekannter Ursache; 2 der sofort infizierten Ratten weisen am 20. Dez. nachm. 4 Uhr Lähmung auf und sterben an der Wut am 23. Dez. 4 Uhr nachm., die anderen bleiben am Leben.

Die 5 Tiere, die 5 Tage nach dem Schlusse der Immunisierung infiziert worden waren, sterben alle an der Wut; 1 ist am 20. Dez. 3 Uhr nachm. gelähmt und stirbt am 21. Dez. gegen 7 Uhr vorm., die anderen 4 zeigen am 25. Dez. 7 Uhr vorm. Lähmung und sterben am 26. Dez. 7 Uhr vorm.

Also während die Hälfte der Ratten, die sofort nach Beendigung der endorektalen Immunisierung mit Straßenvirus subkutan infiziert wurden, überlebt, starben dagegen alle diejenigen, die 8 Tage nach der erfolgten Immunisierung infiziert waren.

b) Mittels einer Emulsion von fixem Virus.

Versuch 27. Nov. 07. 10 weiße Ratten erhalten 15 Tage lang täglich 2 endorektale Einspritzungen von 10 ccm einer 10-proz. Emulsion vom Hirn eines wutkranken Kaninchens in sterilisierter physiologischer Lösung. Jedes Tier bekommt im ganzen 300 ccm. Hierauf werden 5 dieser 10 Ratten subkutan mit Straßenvirus infiziert, die anderen 5 nach 5 Tagen.

Resultat: 6 Ratten sterben an der Tollwut durch das auf endorektalem Wege eingeführte fixe Virus, und zwar weist 1 am 1. Dez. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und stirbt am 2. Dez. 7 Uhr vorm.; 1 andere ist am 4. Dez. 7 Uhr vorm. gelähmt und stirbt am 4. Dez. 7 Uhr abends; 2 andere weisen am 5. Dez. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am 6. Dez. 7 Uhr nachm.; noch 2 andere sind am 7. Dez. 7 Uhr vorm. paralytisch und sterben am 9. Dez. 3 Uhr nachm. Die übrigen 3 sterben hingegen infolge der vorgenommenen Infektion mit Straßenvirus, und zwar zeigt 1 der sofort nach beendeter Immunisierung Infizierten am 19. Dez. 7 Uhr vorm. Lähmung und stirbt am 20. Dez. 7 Uhr vorm. mit fast 6 Tagen Verspätung gegenüber den Kontrolltieren; die beiden anderen 5 Tage nach der Impfung, d. h. am 7. Dez., mit Straßenvirus infizierten weisen am 18. Dez. 7 Uhr vorm. Lähmung auf und sterben am 19. Dez. 7 Uhr vorm.; in derselben Zahl von Tagen (11) wie die Kontrolltiere.

Kontrollversuch 2. Dez. 07. 2 weiße Ratten wurden subkutan mit Straßenvirus infiziert.

Resultat: Die beiden Tiere zeigen am 13. Dez. 7 Uhr vorm. Lähmung und sterben am 14. Dez. 7 Uhr vorm. — Dieser Versuch wird mit getötetem fixen Virus wiederholt.

C. Immunisierung auf endorektalem Wege und nachfolgender endorektaler Infektion mit fixem Virus.

Es war nicht ohne Interesse, zu sehen, ob die Immunisierung auf endorektalem Wege gegen eine nachfolgende endorektale Infektion von fixem Virus wirksam sei.

Versuch 6. März 08. 10 weiße Ratten erhalten 30 Tage lang täglich 2 endorektale Einspritzungen von je 20 ccm einer 30-proz. Emulsion von normaler, frischer Lammhirnsubstanz. Nach dieser Zeit, d. h. am 6. April, erhalten die Tiere 7 Tage lang täglich eine endorektale Einspritzung von 5 ccm einer frischen, 10-proz. Emulsion von fixem Virus.

Resultat: 3 Ratten sind am 13. April 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben am 14. April 7 Uhr vorm.; 2 andere sind am 14. April 7 Uhr vorm. gelähmt und sterben am 15. April 7 Uhr vorm. Die 5 anderen überleben.

Also die endorektale Immunisierung mit normaler Nervensubstanz rettete die Hälfte der Ratten gegen eine endorektale Infektion mit fixem Virus.

Schlußfolgerung.

Die 30-tägige Immunisierung auf endorektalem Wege hätte somit 50 Proz. der nachher auf endorektalem Wege mit fixem Virus infizierten Ratten gerettet.

Zusammenfassung der Resultate und Schlußfolgerungen.

1) Die Wutinfektion durch fixes Virus auf endorektalem Wege wurde bei Ratten, Kaninchen und Meerschweinchen erzielt, und zwar im Verhältnis von ungefähr 60 Proz. bei Ratten, von 80 Proz. bei Kaninchen und 100 Proz. bei Meerschweinchen. Folglich wären letztere der endorektalen Infektion durch fixes Virus gegenüber am empfindlichsten gewesen.

2) Hunde und Ratten erwiesen sich bis jetzt refraktär.

3) Diese Infektion wurde in mehreren Fällen nach der ersten endorektalen Einspritzung des fixen Virus erzielt, ohne irgendwelche Verzögerung der Inkubationsperiode.

4) Diese Infektion ging vor sich bei intakter Schleimhaut, ohne irgend welche Verletzung derselben während der Einspritzung, folglich handelt es sich wirklich, entgegen der Meinung Remlingers, um eine Infektion durch die Darmschleimhaut hindurch.

5) Die Empfänglichkeit der Ratten für endorektale Infektion durch fixes Virus war ungefähr die gleiche wie jene, die man per os erzielte.

6) Die nach der subkutanen Infektion mit Straßenvirus vorgenommene endorektale Impfung mit einer Emulsion von normaler Substanz oder mit einer Emulsion von fixem Virus zu 30 Proz. (2 Einspritzungen 15 Tage lang, jede von 10 ccm), indem man jeder Ratte 300 ccm Emulsion verabreichte, war gänzlich inaktiv. 20 so infizierte und dann geimpfte Ratten starben alle an der Wut.

7) Nach Einführung einer Quantität Emulsion von normaler Nervensubstanz (Hirn vom gesunden Lamm) im Verhältnis von 10 ccm pro Tag und 11—13 Tage hindurch (im ganzen 110—130 ccm) in das Rektum der Ratten und nach hierauf folgender Infektion durch Straßenvirus subkutan blieb 1 von 4 Tieren = 25 Proz. am Leben.

Bei Verabreichung von 300 ccm hingegen wurden 2 von 4 = 50 Proz. der Tiere gerettet.

8) Bei 2 endorektalen Einspritzungen von je 10 ccm 20 Tage hindurch, indem man, wie oben, insgesamt 200 ccm Emulsion von frischem, fixen Virus zu 10 Proz. einspritzt, wurde 1 von 3 Tieren = 33 Proz. gerettet.

9) Werden die Tiere, wie oben behandelt, jedoch mit einer Menge von 300 ccm Emulsion von fixem Virus zu 10 Proz., so werden 2 von 3 = 66 Proz. gerettet.

10) Während man bei sofort nach der letzten endorektalen Einspritzung von normaler oder Wutnervensubstanz vorgenommener Infektion 50 Proz. der Tiere rettete, gingen hingegen bei der Vornahme der Einspritzungen 5 Tage nach der Behandlung alle Tiere zugrunde.

11) Die Immunisierung auf endorektalem Wege erwies sich dagegen für mit fixem Virus subkutan nachher infizierte Hunde und Katzen ganz unwirksam.

12) Ebenfalls ganz unwirksam, wie zu erwarten war, erwies sich diese Immunisierungsweise für mit fixem Virus in die Hornhaut nachher infizierte Kaninchen. — Die positiven Resultate, die in dieser Beziehung von Remlinger erhalten wurden, wenn die Kontrollversuche nicht vergessen wurden, sind daher für mich ganz unverständlich.

13) Die 30-tägige Immunisierung mit normaler Nervensubstanz auf endorektalem Wege hätte dagegen 50 Proz. der nachher auf endorektalem Wege mit fixem Virus infizierten Ratten gerettet.

14) Die Impfung auf endorektalem Wege ist weniger wirksam als die Impfung per os, besonders in bezug auf die Mäuse, denn von den auf endorektalem Wege behandelten Muriden wurden 50 Proz. gerettet, von den per os behandelten blieben 60—90 Proz. am Leben.

15) Auch bezüglich der endorektalen Immunisierung erwies sich die normale Nervensubstanz nicht schwächer als die Wutnervensubstanz.

Nachdruck verboten.

Die Methoden der Impfungen gegen die Tollwut in russischen und ausländischen Pasteur-Instituten.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Medizinischen Gesellschaft zu Charkow].

Von Dr. V. Nedrigailoff.

Eine der wichtigsten praktischen Eroberungen der Bakteriologie ist die Methode der aktiven und der passiven Immunisation des Menschen und der Tiere bei einigen Infektionen. Die passive Immunisation wird gegenwärtig beim Menschen bei Diphtherie, Tetanus, Dysenterie und Streptococcus verwendet, die aktive bei Milzbrand, Pocken und Tollwut. Die Methode der aktiven Immunisation wird außerdem in weitem Sinne bei Tieren angewandt, um Heilserum zu gewinnen.

Die wissenschaftliche Ausarbeitung dieser Methode der Immunisation vervollkommnete sich allmählich, und erreicht bei einigen Infektionskrankheiten, wie Diphtherie und Tetanus, zurzeit eine mathematische Genauigkeit.

Für die Bestimmung der Kraft des Serums und der Toxine sind bereits besondere Maßeinheiten gefunden worden, welche von sämtlichen bakteriologischen Instituten angenommen sind, so wird z. B. das Diphtherieserum bekanntlich nach Prof. Ehrlichs Methode gemessen.

Die Bezeichnung auf den Fläschchen mit dem Antidiphtherieserum — „1000 Heileinheiten“ entspricht einer realen Größe, denn jede Einheit neutralisiert eine genau bestimmte Menge von Minimaldosen des Diphtherietoxins, welche für ein Meerschweinchen tödlich ist.

Die aktive Immunisation der Pferde für die Beschaffung eines Antidiphtherie- oder Tetanusserums geschieht mittelst Toxinen, deren minimale tödende Dose genau an den Versuchstieren festgestellt wird; man kann jederzeit bei solcher Immunisation feststellen, wie viel tödende Dosen des Toxins das immunisierte Tier erhalten hat.

Bei Vaccination der Tiere gegen den Milzbrand spritzt man ihnen zwei Vaccine nacheinander, ein schwaches und ein starkes, deren Aktivität an entsprechenden Tieren genau geprüft wird, ein.

Die Möglichkeit, genau die Stärke des Heilserums, der Vaccine und der Toxine zu dosieren, gestattet heutzutage jedem Institute, Stoffe von gleichem Werte herzustellen; dieser Umstand gestattet seinerseits, die Resultate bei Anwendung am Menschen und an Tieren zu verwerten und untereinander zu vergleichen.

Leider haben nicht alle uns bekannten Methoden der aktiven und passiven Immunisation die obenerwähnte Genauigkeit erreicht.

Wir verstehen beispielsweise absolut nicht, die Stärke des Antistreptokokkenserums zu bestimmen, die Frage über die Stärke der Pockenvaccine ist ebenfalls noch nicht gelöst. Zu dieser Kategorie gehören auch die Schutzimmunisationen nach Pasteur nach dem Bisse toller Tiere, welche zurzeit eine ungemein große praktische Anwendung gefunden haben, sowohl in Rußland als auch im Auslande. Fast sämtliche gegenwärtig bestehenden Pasteursche Institute nahmen bei ihrer Gründung als Muster die Methoden, welche im Pariser Institut angewendet werden. Mit der Zeit aber veränderte die Mehrzahl der Institute aus verschiedenen Gründen diese Methoden mehr oder weniger. Von dem allgemeinen Prinzip einer allmählichen Immunisation mit Hirnen aufsteigender Virulenz ausgehend, verwenden jetzt die Institute dieses Prinzip nach einem im Laufe mehrerer Jahre ausgearbeiteten Schema. Die Abweichungen beziehen sich dabei auf mehrere Fragen der Immunisation, nämlich die Menge der einzuspritzenden Emulsion, die Art ihrer Herstellung, die Zahl der täglichen Einspritzungen, die Dauer der Erholung, die wiederkehrende Immunisation etc. In Paris beginnt die Kur mit den Hirnen nach 14-tägigem Trocknen, in Charkow nach 6-tägiger, in Kiew nach 5-tägiger, in Breslau dagegen nach 4-tägiger. In Paris, Petersburg, Kiew, Moskau, Ufa, Ssaratow und Ssamara wird einmal täglich immunisiert, in anderen Instituten zweimal, in Odessa selbst dreimal am Tage. Indessen kann man nicht sagen, daß die Pasteurschen Impfungen vollständig gleichgültig für den Organismus des Menschen sind; sie rufen vielmehr bisweilen lokale (Schmerz, Rötung, Geschwülste und allgemeine Erregung, unbedeutende Temperatursteigerung, Vergrößerung der Lymphdrüsen) Störungen hervor. Es sind Fälle bekannt, wenn auch glücklicher Weise sehr selten, von steigernder Lähmung nach den Pasteurschen Einimpfungen, ferner solche, wo rechtzeitig und in großer Anzahl vorgenommene Impfungen keine befriedigenden Resultate ergaben, selbst bei Personen mit unbedeutenden Bissen.

Es gibt zurzeit keine Möglichkeit, diese Tatsachen wissenschaftlich zu erklären, wegen der bedeutenden Verschiedenheit in den Methoden der Impfungen. Es ist ebenfalls unmöglich, die Verschiedenheit der Resultate der Impfungen in Pasteurschen Instituten aufzuklären.

Dies veranlaßte mich, die Methodik der Impfung in russischen und einigen ausländischen Instituten zu studieren, indem ich als Muster das Pasteursche Institut zu Paris wählte, welches sehr genau kennen zu lernen, ich Gelegenheit hatte¹⁾.

Bei diesem Studium stieß ich auf die Möglichkeit, eine besondere Einheit für den Vergleich der verschiedenen Methoden der Impfungen zu finden.

1) „Ueber die Pasteurschen Impfungen im Pariser Institut 1903.“ (Arbeiten der Medizinischen Gesellschaft zu Charkow. 1904). [Russisch].

Die Pasteurschen Schutzeinimpfungen bestehen bekanntlich aus zwei Momenten, 1) die Abschwächung des Giftes der Wut und 2) das Herstellen der einzuspritzenden Emulsion.

Die Abschwächung des Giftes geschieht durch Trocknen. Für diese Zwecke nimmt man bekanntlich das Hirn eines Kaninchens, welches an Lyssa krepirt ist, und hängt dieses in ein sterilisiertes Glas, auf dessen Boden sich Stücke von Kalilauge finden.

Die Dauer des Trockenwerdens der Hirne und folglich auch der Abnahme der Virulenz hängt von mehreren Faktoren ab; sie sind der Menge der KOH und der Temperatur des Thermostaten gerade proportionell, dem Volumen des Glases und dem Gewicht des Hirns dagegen — umgekehrt proportionell. Die Größe des Mixus kann man durch das Kaninchengewicht ausdrücken, als Aequivalent für die erstere.

Im Pariser Institut gebraucht man Gläser von 1 l Volumen mit ca. 150 g Kalilauge.

Zur Ansteckung gebraucht man in Paris sehr große Kaninchen — fast immer von ca. 2000 g Gewicht. Das Rückenmark dieser Kaninchen zerschneidet man in drei gleiche Teile, und hängt jeden mit einem Faden in das obenerwähnte Glas.

Die Gläser mit den Hirnen werden in einem großen, dunklen Zimmer aufbewahrt, einer Art von Thermostaten mit beständiger Temperatur von 23° C. Bezeichnen wir mit D den annähernd ständigen Koeffizienten der Abnahme der Virulenz des Wutgiftes; mit K das Quantum der Kose; mit T die Temperatur des Thermostaten; mit S das Volumen des Glases und mit W das Gewicht des Kaninchen, so läßt sich dieser Koeffizient in folgender Formel ausdrücken:

$$D = \frac{K \cdot T}{S \cdot W}.$$

In Pariser Institut $K = 150 \text{ g}$

$T = 23^\circ$

$S = 1 \text{ l}$

$W = 2000 \text{ g}$

Folglich bedeutet der Pariser Koeffizient der Abschwächung des Wutgiftes

$$D = \frac{150 \cdot 23}{1 \cdot 2000} = 5,1.$$

$\frac{2000}{3}$ bedeutet, daß ins Glas ein Drittel des Rückenmarkes eines Kaninchens von 2000 g Gewicht gehängt wird.

Es erschien sehr interessant, die Größe des Abschwächungskoeffizienten auch in anderen Instituten kennen zu lernen, und die Frage zu lösen, ob dieser Koeffizient als Einheit dienen kann, um die Institute unter einander zu vergleichen.

Zu diesem Zwecke richtete ich an sämtliche Pasteur-Institute Rußlands die entsprechenden Fragen, auf welche ich sehr ausführliche Antworten bekam, wofür ich meinen Kollegen den herzlichsten Dank ausspreche. Einige Institute Rußlands und Amerikas besichtigte ich persönlich. Die Angaben über das Breslauer Institut entnahm ich dem Aufsätze des Dr. Kotzewaloff¹⁾.

1) Kotzewaloff, S., Das Breslauer Pasteur-Institut und die deutsche Art der Schutzimpfungen gegen die Tollwut. (Charkower Medizinische Zeitung. 1907. No. 9.)

Die von mir zusammengebrachten Angaben sind in folgenden Tabellen zusammengestellt:

Tabelle I.

| | Kiew | Tomsk | Warschau | Moskau | Ufa | Breslau | New York | Tiflis | Saratow | Odessa | Perm | Petersburg | Charkow | Ssamara | Ekatherinoslaw | Paris |
|--|------|-------|----------|--------|------|---------|----------|--------|---------|--------|------|------------|---------|---------|----------------|-------|
| Das Volumen des Glases in Liter | 1 | 0,75 | 0,5 | 1 | 1,2 | 2 | 2 | 1,2 | 1,5 | 0,8 | 2,2 | 1 | 2,5 | 1,2 | 1,2 | 1 |
| Die Menge der Kose in Gramm | 5 | 10 | 20 | 25 | 30 | 150 | 150 | 80 | 50 | 45 | 150 | 50 | 130 | 100 | 90 | 150 |
| Das mittlere Gewicht der Kaninchen | 1200 | 1500 | 2500 | 1200 | 1400 | 1800 | 1800 | 1500 | 1500 | 1800 | 1200 | 1500 | 1300 | 1800 | 1600 | 2000 |
| In wie viel Gläser wird das Rückenmark gehängt | 2 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 |
| Die Temperatur d. Thermostaten | 15 c | 12 c | 15 c | 22 c | 18 c | 22 c | 22 c | 22 c | 22 c | 18 c | 22 c | 20 c | 23 c | 20 c | 23 c | 23 c |
| Der Tag der Kaninchenerkrankung | 5 | 5 | 5—6 | 5 | 5 | 7 | 6—7 | 6 | 5 | 4—5 | 5 | 5—6 | 6—7 | 4—5 | 7 | 7 |
| Der Tag des Kaninchentodes | 9 | 8 | 8—9 | 8 | 8—9 | 9 | 8—9 | 10—12 | 8 | 7—8 | 7 | 7—8 | 8—9 | 6—7 | 9—10 | 11—12 |
| Der Koeffizient der Abschwächung des Wutgiftes | 0,1 | 0,2 | 0,5 | 0,5 | 0,6 | 0,9 | 0,9 | 1 | 1 | 1,1 | 1,3 | 1,3 | 1,8 | 1,9 | 2,2 | 5,1 |
| Die relat. Größe d. Koeffizienten | 1 | 2 | 5 | 5 | 6 | 9 | 9 | 10 | 10 | 11 | 13 | 13 | 18 | 19 | 22 | 51 |

Aus der angeführten Tabelle No. 1 ersieht man, daß die Pasteur-Institute verschiedene Koeffizienten der Abschwächung des Wutgiftes haben, entsprechend der Verschiedenheit der Elemente, welche dieses zusammensetzen.

Das Volumen der Gläser schwankt von 500—2500 ccm; die Menge der Kose in jedem Glase von 5 bis 150 g; das Gewicht des Kaninchens von 1200—2000 g; die Temperatur des Thermostaten endlich von 12°—23° C.

Als Resultate ergaben sich folgende Größen des Koeffizienten der Abnahme in steigender Reihenfolge: 0,1—0,2—0,5—0,6—0,9—1—1,1—1,3—1,8—1,9—2,2—5,1.

Nehmen wir den Minimalkoeffizienten (Kiew) als die Einheit, so bekommen wir folgende Reihe relativer Koeffizienten: 1—2—5—6—9—10—11—13—18—19—22—51. Es bestehen große Verschiedenheiten zwischen den extremen Gliedern dieser Reihe.

Es ist aber zu bemerken, daß die auf diese Weise erzielten Zahlen der Wirklichkeit nicht entsprechen.

Nehmen wir an, daß unter übrigens gleichen Bedingungen in Kiew 5 g Kose genommen wird, in Paris dagegen 150 g, so bedeutet dies keineswegs, daß in ersterem Institut der Abschwächungskoeffizient 50 mal kleiner ist, als im zweiten, da aller Wahrscheinlichkeit nach von den 150 g KOH nur ein bestimmter, zurzeit noch vollständig unbekannter Teil beim Prozeß des Trocknens des Hirns und folglich auch der Abschwächung des Tollwutgiftes beteiligt ist, während die übrige Menge

Ballast darstellt, welcher nur künstlich die Verschiedenheit der Koeffizienten vergrößert. Dasselbe gilt von der Verschiedenheit der Temperatur; hier sind auch aller Wahrscheinlichkeit nach die Grenzen beim Anfange und Ende der Einwirkung der Temperatur auf den Prozeß des Hirntrocknens vorhanden.

Nicht ohne Bedeutung sind auch die übrigen Faktoren, wie das Volumen des Glases und die Größe des Rückenmarkes bezw. des Kaninchens.

Die von uns ausgerechneten Größen des Koeffizienten der Abschwächung des Wutgiftes in verschiedenen Instituten entsprechen also nicht der Wirklichkeit und bedürfen einer Korrektur; dies letztere kann aber nur nach detailliertem Studium der Einwirkung und der Grenze derselben auf die Schwächung des Wutgiftes aller Elemente, welche die Koeffizienten der Abschwächung charakterisieren, vorgenommen werden. Nichtsdestoweniger beweisen die von uns in Tabelle No. 1 angeführten und ausgerechneten Koeffizienten zur Genüge die ziemlich große Verschiedenheit der Methoden der Materialgewinnung für die aktive Immunisation des Menschen gegen das Gift der Tollwut.

Wenden wir uns nun zur Frage über die Abschwächung dieses Giftes, welche unter den erwähnten Bedingungen der Aufbewahrung der Rückenmark der wutkranken Kaninchen resultiert. In dieser Richtung gelang es mir, folgende Angaben zu sammeln:

Tabelle II.

| Die Dauer des Trocknens in Tagen | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | Koeffizient der Abschwächung |
|----------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|------------------------------|
| Kiew | + | + | + | + | + | ± | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Tomak | + | + | + | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 2 |
| Warschau | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| Moskau | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| Breslau | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 |
| New York | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 |
| Tiflis | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| Saratow | + | + | + | + | + | ± | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| Odessa | + | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 |
| Perm | + | + | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13 |
| Petersburg | + | + | + | + | ± | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13 |
| Samara | + | + | + | ± | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 19 |
| Paris | + | + | + | ± | ± | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 51 |

In der Tabelle No. 2 bedeutet das Zeichen +, daß das Hirn giftig ist; ± bald giftig, bald nicht; 0 absolut unvirulent ist.

Die Durchmusterung dieser Tabelle und ein Vergleich der Koeffizienten der Abschwächung sowie des Grades derselben zeigt eine gewisse Gleichmäßigkeit. So beginnt bei den Maximalkoeffizienten 13—19—51 der endgültige Verlust der Virulenz im Laufe von 4 und 5 Tagen; bei den Minimalkoeffizienten 1—2 verlieren die Hirne ihre Virulenz aber erst nach 6—8 Tagen. Gleichzeitig aber verlieren die Hirne ihre Virulenz bei so verschiedenen Koeffizienten wie 5, 11 und 51 im Laufe der gleichen Zeit, und zwar in 5 Tagen.

Diese Ungleichmäßigkeit hängt von mehreren Ursachen ab: Erstens von der verschiedenen Virulenz des Virus fixe in den verschiedenen Instituten; die Erkrankung der angesteckten Kaninchen beginnt am 4., 5., 6. und 7. Tag, wie dies aus der Tabelle No. 1 ersichtlich ist, der Tod aber tritt am 6., 7., 8., 9., 10., 11. und selbst am 12. Tage ein. Zweitens sind sie davon abhängig, daß die Größen der Koeffizienten selbst nicht

der Wirklichkeit entsprechen; endlich, von Ungenauigkeit und Uneinigkeit beim Bestimmen des Grades der Abnahme der Virulenz des Wutgiftes in den Hirnen bei den verschiedenen Instituten, welche dem Trocknen unterliegen.

In dieser wichtigen Frage fehlt die Einheit der Messung. Indessen ist es nötig, um die Daten der verschiedenen Institute untereinander zu vergleichen, überall den Grad der Abschwächung der Hirne beim Trocknen nach einheitlicher Methode zu bestimmen. Diese Frage ist aber noch gänzlich unberücksichtigt geblieben. Um die Virulenz zu bestimmen, schneidet man in der Regel ein kleines Stück Rückenmarks ab, bereitet in physiologischer Kochsalzlösung eine Emulsion und einen Teil davon spritzt man einem Kaninchen unter die Dura mater. Alle von diesen drei Operationen können zweifellos in verschiedenen Instituten verschieden ausgeführt werden. Es können verschiedene Mengen des Markes und der Salzlösung genommen und verschiedene Mengen der Emulsion eingespritzt werden. Man bekommt also sehr verschiedene Resultate. Nimmt ein Experimentator 2—3 mal weniger als der andere, von der Salzlösung dagegen 2—3 mal mehr, so bekommt er das Hirn von 5—6-tägigem Trocknen avirulent, während der andere dasselbe virulent oder nur leicht abgeschwächt findet.

Es müßte daher, um gleichmäßige Resultate zu erhalten, das Experiment in sämtlichen Details identisch sein.

Als Vergleichseinheit kann man die maximale Verdünnung des Virus fixe mit Kochsalzlösung nehmen, bei welcher das unter die Dura mater geimpfte Kaninchen in einem bestimmten, für das Virus fixe charakteristischen Zeitraume krank und getötet wird.

Prof. Högyes¹⁾ fand, daß man für die Maximalverdünnung 1:250 annehmen soll; bei stärkeren Verdünnungen tritt eine Verspätung der Erkrankung ein. Die notwendige Menge des Hirns soll man bei diesen Versuchen nach dem Gewicht nehmen, indem man darauf achtet, daß das Hirn sauber bleibt; die sorgfältig vorbereitete Emulsion soll mit entsprechender Menge der Kochsalzlösung durch ein dichtes Metallnetz filtriert werden, und zwar soll immer dieselbe Menge der Emulsion, z. B. 0,2 ccm, eingespritzt werden. Entsprechend dem fortschreitenden Trockenwerden des Hirns und der Abnahme von dessen Virulenz, soll man immer kleinere Mengen der Kochsalzlösung nehmen, um bei der Injektion den gleichen Effekt hervorzurufen. Man kann sich annähernd folgende Skala der Abnahme beim Trocknen des Hirns eines toten Kaninchens vorstellen:

| | | | | | | | | | |
|--------------|------------|-----------|-----------|-------------|---|---|--|--|-----------------------|
| Die Virulenz | Virus fixe | | | | | | | | |
| | | des Hirns | 1-tägiger | Trockenheit | | | | | $= \frac{1}{250}$; |
| " | " | " | " | 2 | " | " | | | $= \frac{1}{200}$; |
| " | " | " | " | 3 | " | " | | | $= \frac{1}{100}$; |
| " | " | " | " | 4 | " | " | | | $= \frac{1}{50}$; |
| " | " | " | " | 5 | " | " | | | $= \frac{1}{20}$; |
| " | " | " | " | 6 | " | " | | | $= \frac{1}{5}$; |
| " | " | " | " | " | " | " | | | $= \frac{1}{5} - 0$. |

Man kann dann sicher sein, daß die in dieser Weise bestimmten Größen der Abschwächung des Wutgiftes beim Trocknen in den verschiedenen Instituten vollständig geeignet sind für den Vergleich und dem Koeffizienten der Abnahme entsprechen.

Damit sind wir mit dem ersten Teil unserer Aufgabe fertig, und gehen nun zur Schilderung der Methoden der Vorbereitung der Emulsion für die Injektion über, sowie zur Auseinandersetzung der Schemata dieser Injektionen in den verschiedenen Instituten.

1) Högyes, „Die Tollwut“. Ins Russische übersetzt von Lange, p. 176.

Beim Vorbereiten der Emulsionen nimmt man fast in sämtlichen Instituten für jeden Erwachsenen verschiedene Mengen des Rückenmarkes, und zwar:

| | |
|---------------------------------------|----------|
| In Kiew | 2,5—3 mm |
| „ Tomsk | 1 „ |
| „ Warschau | 5—6 „ |
| „ Moskau | 1 „ |
| „ Ufa | 2 „ |
| „ Breslau | 4 „ |
| „ New York | 3 „ |
| „ Tiflis | 3 „ |
| „ Ssaratow | 2 „ |
| „ Odessa | 2 „ |
| „ Perm } von 7 und 6-täglichem Hirn | 2 „ |
| „ „ } „ 5 „ „ | 1,5 „ |
| „ „ } „ 4—3 „ „ | 1 „ |
| „ Petersburg von 4 „ „ | 1—4 „ |
| „ Charkow „ 4 „ „ | 1 „ |
| „ Ssaratow } von 7—6—5-täglichem Hirn | 4 „ |
| „ „ } „ 4—3—2 „ „ | 2 „ |
| „ Ekatherinoslaw von 4 „ „ | 1 „ |
| „ Paris „ 4 „ „ | 1—2,5 „ |

Für die Kinder nimmt man in einigen Instituten gleichviel Millimeter des Hirns, in anderen 2—3 mal weniger, je nach dem Alter.

Aus den angeführten Angaben ersieht man, daß die Menge des Hirns für einen Mann von 1—5—6 mm schwankt; mit anderen Worten, in einigen Instituten geht die Immunisation 5—6mal intensiver vor sich als in den anderen. In der Mehrzahl der Institute bereitet man die Emulsion in Pasteurschen kegelförmigen Gläsern vor, mit Hilfe der an der Spitze abgerundeten und zugeschliffenen Glasstäbchen; ein Stück Hirns zermalmt man gewaltsam an der Wand des Gläschens, indem man allmählich die Salzlösung zugießt. Bei dieser Methode erhält man gewöhnlich eine sehr feine Emulsion, ohne bemerkbare Flocken. In Ssamara bereitet man eine sehr feine Emulsion in einem Mörser mit einem gläsernen Stößel. In einigen Instituten werden die Emulsionen durch dichte Metallnetze filtriert. Was das Pasteur-Institut betrifft, so zerreibt man dort die Hirne in den kegelförmigen Gläsern mit ziemlich dicken Glasstäbchen, deren Spitzen nicht abgerundet, sondern umgekehrt flach und ungeschliffen sind. Diese Methode ist eher ein Zerdrücken, als ein Zerreiben, auch verbleiben sehr viele große Flocken.

Die Gläser für das Zerreiben der Hirne sind nicht graduiert und die Brühe¹⁾ wird in annähernd nötiger Menge vorbereitet. Im Pariser Institute bemerkte ich, daß nach dem Schluß der Einimpfungen in jedem Gläschen noch eine, zuweilen ziemlich bedeutende Menge der Emulsion zurückbleibt. Da dieser Umstand nicht ohne Einfluß auf die Verminderung der vom Patienten erhaltenen Hirnmenge ist, so habe ich eine Reihe von Berechnungen vorgenommen, um die Größe dieses Einflusses aufzuklären.

In einem Gläschen mit 6-tägigem Hirn für 8 Personen verblieben nach der Einimpfung 20 ccm der Emulsion, und $8,3 = 24$ ccm waren eingespritzt; es waren also im ganzen 44 ccm der Emulsion zubereitet; da diese für 8 Personen bestimmt war, so wurden 2 ccm Hirn abgeschnitten, je 0,25 ccm für jeden Gebissenen. 1 ccm der Emulsion entspricht $\frac{2}{44}$ ccm des Hirns und 3 ccm, d. h. für einen Kranken, $\frac{6}{44}$ oder 0,14 ccm, anstatt 0,25 ccm, wie dies beim Abschneiden gerechnet

1) Im Pariser Institut verwendet man anstatt der Kochsalzlösung eine in besonderer Weise vorbereitete Brühe.

wird (1 ccm für 4 Personen). Nachdem ich 30 solcher Berechnungen gemacht hatte, fand ich, daß bei der Pariser Art der Vorbereitung der Emulsion die Menge des Hirns, welche der Kranke mit jeder Einimpfung bekommt, immer weniger als 0,25 ccm ist und zwischen 0,09 und 0,17 ccm schwankt. Diese Zahlen muß man aber noch mehr reduzieren, weil infolge der obenbeschriebenen Art des Hirnzerdrückens auf dem Boden jedes Gläschens immer eine bedeutende Menge von großen, schlecht zermalten Hirnstückchen verbleibt.

Ich bin sicher, daß die erwähnten Tatsachen eine große Bedeutung haben bei der Taxierung der Pasteurschen Impfungen und beim Bestimmen der Menge des Hirnstoffes, welche der Patient während der Impfungszeit in diesem oder jenem Pasteur-Institut bekommt. Es entsteht ferner von selbst die Frage, warum, wenn für die Erreichung einer sicheren Immunität gegen die Tollwut eine so kleine Menge des Rückenmarkes genügt, wie wir es soeben für das Pasteur-Institut gezeigt haben, in den anderen Instituten viel größere Mengen angewendet werden? Jedenfalls ist die Technik der Emulsion-Zubereitung bei weitem nicht die gleiche, und die geimpften Personen erhalten die verschiedensten Mengen des Giftes.

Gehen wir zur Betrachtung der Schemata der Impfung über, d. h. der Methodik der aktiven Immunisation gegen die Wasserscheu (siehe Tabelle III p. 636 u. 637).

Ein flüchtiger Blick auf die Tabelle III ergibt schon die bedeutende Verschiedenheit in den Schemata der Schutzimpfungen. Die Verschiedenheit betrifft 1) die Dauer der Impfung; 2) die Zahl der Injektionen pro Tag; 3) die Anwendung der am meisten virulenten Hirne; 4) die Dauer der Anwendung beim Anfang der Impfungen der avirulenten Hirne und 5) die wiederholten Impfungen.

Wie dies aus der Tabelle ersichtlich ist, dauert die Immunisation in verschiedenen Instituten verschiedene Zeit:

| | |
|--------------------|--------------------------------------|
| in leichten Fällen | 7, 10, 12, 14, 15, 16, 21 Tage, |
| „ mittleren „ | 10, 15, 17, 18, 20, 21 Tage und |
| „ schweren „ | 10, 14, 21, 22, 25, 28, 31, 39 Tage. |

Eine Impfung pro Tag wird in Kiew, Moskau, Ufa, Breslau, New York, Ssaratow, Perm, Petersburg, Ssamara und Paris vorgenommen; zwei in Tomsk, Warschau, Tiflis, Charkow und Ekatherinoslaw; drei in Odessa.

In Kiew, New York und Paris macht man in den drei ersten Tagen je zwei Impfungen.

Die Zahl der Impfungen, welche der Patient während der ganzen Zeit der Immunisation bekommt, ist sehr verschieden in den verschiedenen Instituten. Sie ist:

| | |
|--------------------|---|
| in leichten Fällen | 7—12—13—14—15—16—20—21—28—29, |
| „ mittleren „ | 17—18—20—21—24—28—36—40, |
| „ schweren „ | 20—21—25—28—32—33—34—36—39—42—50—59—91. |

In Paris, Petersburg und Perm schließt die Immunisation mit den 3 Tage getrockneten Hirnen; in Warschau, Breslau und Odessa verwendet man solche von 1 Tag und in den übrigen von 2 Tagen. In einigen Instituten beginnt die Immunisation direkt mit, wenn auch schwach virulenten Hirnen, z. B. in Tomsk, Kiew, Breslau, Ssaratow, Petersburg; in anderen dagegen verwendet man die die Virulenz gänzlich entbehrenden Hirne. In Moskau, Warschau, Tiflis und Odessa dauert diese Periode 1 Tag; in Ssamara 3 Tage; in Paris 5 Tage. Das Studium der Tabelle III zeigt deutlich die bedeutende Abweichung der Schemata sämtlicher Institute von dem Pariser. In Paris bekommen

die Patienten bei Bissen von mittlerer Stärke 18 Impfungen, wobei in 13 Fällen die virulenten Hirne genommen werden; in Odessa macht man in gleichen Fällen 40—100 Impfungen, indem die virulenten Hirne 30—40mal eingespritzt werden; in Breslau verwendet man nur die letzteren, von 4-tägigen anfangend.

In Paris spritzt man in mittleren Fällen nur 4mal 3-tägige Hirne ein; in Odessa 8—12mal 3-, 2- und selbst 1-tägige Hirne.

Die Verschiedenheit ist eine kolossale.

Es ist noch zu bemerken, daß man in einigen Instituten, wie z. B. in Ufa, Ekatherinoslaw, Charkow und Breslau, einen Monat nach dem Schlusse der Impfungen eine wiederholte Impfung macht, wenn der Patient ins Gesicht gebissen war, sowie bei Bissen von Wölfen und überhaupt bei schweren, durch tolle Tiere verursachten Wunden.

Setzen wir voraus, daß die 14 Tage getrockneten eingespritzten Hirne ein vaccinierendes Element enthalten, die 1-tägigen Hirne 14 solcher Elemente, die zwischen diesen liegenden die entsprechende Zahl, so erhalten wir interessante Daten, welche uns zeigen, wieviel vaccinierende Elemente in den verschiedenen Instituten die Gebissenen in mittleren Fällen während der Erholung bekommen.

| | | | |
|---------------|------|--------------------|------|
| 1) Moskau | 148, | 9) Tomak | 230, |
| 2) Ufa | 193, | 10) Ekatherinoslaw | 231, |
| 3) Seamara | 193, | 11) Breslau | 273, |
| 4) Paris | 196, | 12) Saaratow | 275, |
| 5) New York | 197, | 13) Kiew | 281, |
| 6) Perm | 203, | 14) Tiflis | 340, |
| 7) Charkow | 224, | 15) Warschau | 450, |
| 8) Petersburg | 228, | 16) Odessa | 479. |

Die angeführten Zahlen zeigen, daß die Zahl der eingeführten vaccinierenden Elemente sehr verschieden ist in den 16 Instituten, und in weiten Grenzen zwischen 148 bis 479 schwankt. In Odessa und Warschau spritzt man 3mal mehr ein als in Moskau.

Man fragt nun unwillkürlich, welches von den studierten Schemata der Vaccination gegen die Tollwut das richtige ist und die schnellste und vollständigste Immunität erzielt.

Wenn man nach den Berichten die guten Resultate bei den Schemata der Institute zu Paris, Petersburg und Perm berücksichtigt, wo nur eine Injektion pro Tag üblich ist, wo die Dauer der Impfungen von 15 bis 21 Tage schwankt, und wo die Vaccination mit 3-tägigem Hirn endet, wozu dienen dann die anderen so umständlichen Schemata mit Anwendung 1-tägiger Hirne?

Eine wissenschaftliche Antwort auf diese Frage ist nur nach dem Vergleiche der Schemata und Methoden der Pasteurschen Impfungen überhaupt in den verschiedenen Instituten möglich. Dazu ist es notwendig, wie ich schon anfangs erwähnte, Maß- und Vergleichseinheiten festzustellen.

Vor allem ist es notwendig:

1) den Einfluß der von mir aufgezählten Faktoren, der Kose, der Temperatur, des Volumens des Glases, der Größe des Rückenmarks, auf den Grad der Abschwächung der Virulenz der Hirne der tollen Kaninchen zu studieren, d. h. den Koeffizienten der Abschwächung des Tollwutgiftes zu studieren;

2) die Ursachen der verschiedenen Virulenz des Virus fixe zu studieren und dasselbe in sämtlichen Instituten durch ein Virus gleicher Stärke zu ersetzen;

3) die minimale tödende Dose von Virus fixe zu finden und nach dieser die Kraft der Hirne verschiedener Trockenheit festzustellen;

Tabelle

| Tage | Kiew | | Toms | | Warschau | | | | Moskau | | Ufa | | | Breslau | New York | | Tiflis | | | | | Saratow | | | |
|------|------|---|------|---|----------|---|---|---|--------|---|-------|---|---|---------|----------|-------|--------|---|---|---|---|---------|---|---|---|
| | M a | | M a | | l s | | | | l m+s | | l m s | | | | l s | | l m s | | | | | l m+s w | | | |
| | M | A | M | A | M | A | M | A | M | M | M | M | M | M | M | M | M | A | M | A | M | A | M | M | M |
| 1 | 6 | 5 | 6 | 5 | 6 | 4 | 6 | 4 | 6 | 6 | 5 | 5 | 5 | 4 | 13+14 | 12+11 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| 2 | 4 | 3 | 5 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 12+1 | 10+9 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 3 | 2 | 5 | 4 | 3 | 3 | 6 | 6 | 4 | 5 | 5 | 4 | 4 | 4 | 2 | 10+9 | 8+7 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 4 | 4 | | 3 | 2 | 4 | 3 | 3 | 2 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 8+7 | 6 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 5 | 3 | | 5 | 4 | 3 | 3 | 1 | 6 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 6 | 5 | 2 | 5 | 2 | 5 | 2 | 5 | 2 | 2 | 2 |
| 6 | 2 | | 4 | 3 | 6 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 5 | 3 | 5 | 4 | 5 | 4 | 5 | 4 | 5 | 5 | 5 |
| 7 | 4 | | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 1 | 3 | 2 | 5 | 5 | 5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 8 | 3 | | 4 | 3 | 3 | 6 | 6 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 3 | 3 | 3 | 2 | 4 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 9 | 2 | | 3 | 2 | 4 | 3 | 3 | 2 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 5 | 4 | 5 | 4 | 5 | 4 | 2 | 2 | 2 |
| 10 | 4 | | 3 | 2 | 3 | 3 | 1 | 6 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 11 | 3 | | | | 6 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 12 | 2 | | | | 3 | 3 | 2 | 1 | 3 | 3 | 4 | 5 | 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 13 | 4 | | | | 3 | 4 | 6 | 4 | 2 | 4 | 4 | 3 | | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 14 | 3 | | | | 3 | 3 | 3 | 2 | 4 | 3 | 4 | 3 | | 2 | 2 | 2 | 2 | 4 | 2 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 15 | 2 | | | | 6 | 4 | 1 | 6 | 3 | 3 | 3 | 2 | | 4 | 4 | 4 | 3 | 2 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 16 | 4 | | | | 3 | 3 | 4 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | | 3 | 3 | 3 | | | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 17 | 3 | | | | 3 | 6 | 2 | 1 | 4 | 2 | 3 | 1 | | 2 | 2 | 2 | | | 4 | 4 | | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 18 | 2 | | | | 4 | 3 | 6 | 4 | 3 | | 4 | 1 | | 4 | 4 | 4 | | | 3 | 3 | | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 19 | 4 | | | | 3 | 4 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | | | 3 | 3 | | | 2 | 4 | | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 20 | 3 | | | | 3 | 3 | 1 | 6 | 4 | | 3 | 2 | | | 2 | 2 | | | 4 | 3 | | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 21 | 2 | | | | | 4 | 3 | | 3 | | 2 | | 1 | | 4 | 4 | | | 3 | 2 | | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 22 | 4 | | | | | 2 | 1 | | 2 | | 4 | | | | 3 | 3 | | | 4 | 4 | | 4 | 5 | 4 | 4 |
| 23 | 3 | | | | | 1 | 4 | | | | 3 | | | | 2 | 2 | | | 3 | 3 | | 3 | 4 | 3 | 3 |
| 24 | 2 | | | | | 3 | 2 | | | | 3 | | | | 4 | 4 | | | 2 | 4 | | 2 | 4 | 3 | 3 |
| 25 | 4 | | | | | 1 | 6 | | | | 2 | | | | 3 | 3 | | | 3 | 2 | | | 2 | 2 | 2 |
| 26 | 3 | | | | | 4 | 3 | | | | | | | | 2 | 2 | | | | | | | 5 | | |
| 27 | 2 | | | | | 2 | 1 | | | | | | | | 4 | 4 | | | | | | | 4 | | |
| 28 | 4 | | | | | 6 | 4 | | | | | | | | 3 | 3 | | | | | | | 3 | | |
| 29 | 3 | | | | | 3 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | |
| 30 | 2 | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | 4 | | |
| 31 | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 | | |
| 32 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | |
| 33 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Die Erklärung der Zeichen: M Morgen, T Tag, A Abend; l in leichten Fällen, das Zeichen — bedeutet, daß vor diesem Zeichen die Einimpfungen in

4) die einheitliche Methode der Emulsion-Zubereitung für die Impfungen auszuarbeiten;

5) ein Klassifikationsschema der Wunden auszuarbeiten, welche durch tolle Tiere verursacht werden;

6) das regelmäßige Sammeln der statistischen Kenntnisse über den Gesundheitszustand bei den Personen zu erleichtern, welche den Pasteurschen Impfungen unterzogen worden sind.

Der Vollständigkeit wegen ist es notwendig, darauf hinzuweisen, daß außer den oben beschriebenen Methoden der Vaccination noch eine

No. III.

| Odessa | | | | Perm | Petersburg | | | Charkow | | | Ssamara | Ekatheri-noslaw | | | | Paris | | |
|--------|-------|---|---|------|------------|---|---|---------|---|---|---------|-----------------|---|---|---|-------|---|---|
| l | m + s | | | | l | m | s | l | m | s | l | s | l | m | | l | m | s |
| M | A | M | P | A | M | M | M | M | A | M | A | M | A | M | A | M | M | M |
| 8 | 6 | 8 | — | 6 | 7 | 5 | 5 | 5 | 6 | 6 | 6 | 6 | 7 | 7 | 6 | 5 | 6 | 5 |
| 4 | 3 | 4 | 3 | 2 | 6 | 5 | 5 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 6 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 2 | 6 | 1 | 6 | 4 | 6 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 2 | 5 | 5 | 3 | 5 | 3 |
| 4 | 3 | 3 | 2 | 1 | 5 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 6 | 5 | 4 | 4 | 5 | 4 |
| 2 | 6 | 6 | 4 | 2 | 5 | 5 | 3 | 3 | 2 | 6 | 6 | 5 | 4 | 3 | 4 | 3 | 2 | 4 |
| 4 | 3 | 2 | 1 | 6 | 4 | 4 | 3 | 5 | 5 | 4 | 4 | 4 | 2 | 2 | 3 | 2 | 4 | 3 |
| 2 | 6 | 4 | 3 | 2 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 2 | 3 | 2 | 6 | 5 | 3 | 4 | 2 | — |
| 4 | 3 | 1 | 6 | 4 | 6 | 3 | 4 | 4 | 3 | — | — | 2 | 5 | 4 | 3 | 2 | 4 | 4 |
| 2 | 6 | 3 | 2 | 1 | 6 | 4 | 3 | 3 | — | — | 4 | 3 | 3 | 2 | 5 | 3 | 2 | 4 |
| 4 | 3 | 6 | 4 | 3 | 5 | 4 | 3 | 3 | 2 | 2 | 6 | 6 | 4 | 2 | 3 | 2 | 5 | 3 |
| 2 | 6 | 2 | 1 | 6 | 5 | 3 | 4 | 3 | — | — | 5 | 5 | 3 | 4 | 4 | 3 | 5 | 5 |
| 4 | 3 | 4 | 3 | 2 | 4 | 3 | 4 | 4 | — | — | 4 | 3 | 2 | 3 | 2 | 4 | 4 | 4 |
| 2 | 6 | 1 | 6 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | — | — | 3 | 2 | 4 | 2 | 3 | 2 | 4 | 4 |
| 4 | 3 | 3 | 2 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 |
| 2 | 6 | 4 | 3 | 6 | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | 2 | 2 | 2 | 2 | — | 3 | 3 | 3 |
| 4 | 3 | 2 | 1 | 6 | 5 | 4 | 4 | 3 | — | — | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | 5 | 5 |
| 4 | 3 | 2 | 1 | 5 | 4 | 4 | 3 | 3 | — | — | 2 | 2 | 2 | 2 | — | — | 4 | 4 |
| 1 | 6 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | — | — | — | — | — | — | — | — | 3 | 3 |
| 3 | 2 | 1 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 5 |
| 6 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 4 |
| 2 | 1 | 6 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 3 |
| 4 | 3 | 2 | 1 | 6 | 4 | 3 | 3 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 5 |
| 1 | 6 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 4 |
| 3 | 2 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 3 |
| 6 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 5 |
| 2 | 1 | 6 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 4 |
| 4 | 3 | 2 | 1 | 6 | 4 | 3 | 3 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 3 |
| 1 | 6 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 5 |
| 3 | 2 | 1 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 4 |
| 6 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 3 |
| 2 | 1 | 6 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 5 |

m in mittleren Fällen, s in schweren Fällen, w bei den Wolfsbissen.
 leichteren Fällen getan werden; nach diesem bis zum Ende in ernsteren Fällen.

Methode der unmittelbaren Einführung des Virus fixe in verschiedenen Graden der Verdünnung, von 1:8000—10000 anfangend und mit 1:100 endigend, existiert.

Die Vorzüge dieser Methode bestehen in der Möglichkeit, immer bestimmte Mengen des Wutgiftes einzuführen. Die Methode wird in Budapest und in dem New Yorker privaten Pasteur-Institut angewendet. In Kiew führte man bis zur letzten Zeit außerdem in Fällen schwererer Bisse ins Gesicht, Hand in Hand mit der gewöhnlichen Methode der subkutanen Impfungen noch direkt in die Venen eine

fein zubereitete und durch dichtes Metallnetz filtrierte Emulsion aus Virus fixe ein.

Zum Schlusse muß ich noch bemerken, daß das Studium der Methode der Impfung in verschiedenen Pasteur-Instituten die Unbeständigkeit dieser Methoden zeigte und den Ersatz derselben durch andere in relativ kurzer Zeit.

Die oben in Tabelle III angeführten Angaben über die verschiedenen Methoden der Pasteurschen Impfungen sind von mir im Jahre 1907 gesammelt worden. Die analogen Angaben für das Jahr 1906 sind von mir in einer Tabelle zusammengestellt in der Charkower Medizinischen Zeitung 1906, No. 1. Wenn wir die beiden Tabellen untereinander vergleichen, so sehen wir, daß während dieser Zeit die Methoden der Impfung in einigen Instituten bedeutenden Änderungen unterworfen worden sind. In Moskau begannen die Einimpfungen 1905 mit 10-tägigen Hirnen, 1907 dagegen mit 6-tägigen, in Warschau und Tomsk mit 8-, jetzt aber mit 6-tägigen. In Warschau wurde 2mal pro Tag geimpft, jetzt aber nur noch einmal in sämtlichen Fällen. Im Berliner Pasteur-Institut¹⁾ verwendete man bis 22. Sept. 1899 das Schema des Pariser Institutes; von dieser Zeit an ging man zu intensiveren Impfungen über, und verwendete 2-tägige Hirne.

Mit jedem Jahr wurden die Impfungen im Berliner Institute mehr und mehr intensiv, und zur Zeit verwendet man, wie aus der Tabelle III hervorgeht, ausschließlich die virulenten Hirne, von 4-tägigen ausgehend und mit 1-tägigen schließend.

Im New Yorker Pasteur-Institut des Volksgesundheitsamtes hat man die längere und intensivere Methode der Impfungen seit 1905 anzuwenden begonnen. In dem anderen privaten Pasteur-Institut daselbst wurde die seit 1907 angewendete Vaccinationsmethode mit trockenen Hirnen durch die Budapest Methode ersetzt, bei welcher man Virus fixe in verschiedenen Verdünnungsgraden einspritzt.

Aller Wahrscheinlichkeit nach werden die von mir angeführten Schemata der Pasteurschen Impfungen von 1907 in nächster Zeit Veränderungen und Ergänzungen unterliegen. Die Ursache dieser Unbeständigkeit ist von der Tatsache abhängig, daß keine der vorhandenen Methoden absolut zuverlässig ist; bei allen, selbst intensiven Impfungen beobachtet man die unerklärlichen Fälle der Erkrankung an Tollwut.

Was die Methodik der Pasteurschen Impfungen noch betrifft, so ist zu bemerken, daß die zur Zeit angewendete Art der aktiven Immunisation gegen das Wutgift eine eigenartige ist und bei keiner anderen akuten oder chronischen Krankheit angewendet wird. Charakteristisch ist das Einspritzen der Antigene nicht nur täglich, sondern 2—3mal pro Tag. Eine solche Methode steht in Widerspruch mit den gegenwärtigen Vorstellungen über das Wesen der aktiven Immunisation. Es ist durch mehrfache Versuche festgestellt worden, daß nach dem Einführen irgend welcher Antigene in den Organismus das Auftreten der spezifischen Antikörper in demselben sich erst nach 4—6 Tagen zeigt; in der ersten Zeit nach dem Einspritzen kann man in dem Serum des betreffenden Organismus selbst eine Abnahme der Antikörper feststellen. Bei der Vaccination gegen die Erreger der asiatischen Cholera und des Typhus ist die sogenannte „negative bakterizide Phase“ aufgestellt worden; sie tritt in der ersten Zeit nach der Einführung der entsprechenden

1) Kotzewalon, S., „Das Breslauer Pasteur-Institut und die deutsche Art der Schutzimpfungen gegen die Tollwut“. (Charkower Medizinisch. Ztg. 1907. No. 9.)

Vaccine auf. In der letzten Zeit hat Wright unter den erwähnten Bedingungen das Vorhandensein einer negativen opsonischen Phase nachgewiesen, bei welcher es unmöglich ist, die Einspritzung der Vaccine vorzunehmen, da diese Operation die negative Phase noch steigert und dem Organismus einen beträchtlichen Schaden zufügen kann.

Die Vaccination bei der Tollwut ignoriert aber diese Tatsachen. Schon am nächsten Tage spritzt man 2-tägige Hirne ein, am dritten Tage 1-tägige, in der Voraussetzung, daß durch die vorhergehende Injektion der Organismus gegen solche Hirne bereits immun geworden ist. Es gibt indessen keine Beweise zugunsten dieser Voraussetzung; nach der Analogie mit anderen Krankheiten erscheint sie geradezu unglaublich.

Wenn in einigen Pasteur-Instituten, wie z. B. im Breslauer, mit dem Einspritzen der virulenten Hirne begonnen wird, kann man versichern, daß die vorhergehende Einspritzung nicht virulenter Hirne, welche zuweilen im Laufe längerer Zeit (z. B. im Pariser Institut) angewendet wird, keine oder nur eine unbedeutende Rolle spielt. Ebenso wenig begründet ist die ununterbrochene, vielmal wiederholte Einspritzung der virulenten Hirne von 4—3—2 und 1 Tag. Im Laufe einer so kurzen Zeit wie ein Tag, kann der Organismus zweifellos nicht für das folgende, mehr virulente Hirn vorbereitet werden.

In der Literatur ist unter anderem eine Angabe vorhanden, nach welcher die Möglichkeit existiert, mit nur drei Einspritzungen die Hunde gegen die Tollwut zu vaccinieren. Darüber äußert sich Protopopoff¹⁾ in seiner im Charkower Pasteur-Institut ausgeführten Arbeit. Er spritzte den Hunden in die Venen nach je 3 Tagen die Emulsionen aus 6-, 3- und 1-tägigem Hirn nacheinander ein.

Durch Impfung von Virus fixe unter die Dura mater gelang es nicht, die Hunde anzustecken, während die Kontrolltiere bei gleicher Art der Ansteckung an Tollwut zugrunde gingen.

Heutzutage wird in einigen Pasteur-Instituten mit großem Erfolg die Methode angewendet, welche Krasnitzky vorgeschlagen hat, und welche darin besteht, daß man in die Venen zweimal in 5—6 Tagen eine Emulsion von Virus fixe 1:300 einführt. Die beschriebenen Methoden von Protopopoff und Krasnitzky weisen auf die Möglichkeit hin, die Zahl der Impfungen bei der Vaccination der Tiere herabzusetzen.

Wenn wir die zur Zeit in verschiedenen Instituten angewendeten sogenannten Schemata der ununterbrochenen Impfungen durchmustern, so bemerken wir, daß sie schon jetzt durch das Schema mit Intervallen ersetzt werden können, ohne daß dabei die Menge des einzuspritzenden Hirns kleiner wird, wenn man auf einmal dieselbe Menge einführt, welche jetzt in der Regel während längerer Zeit eingeführt wird. Im Moskauer Institut führt man dem Patienten während der ersten 5 Tage die Hirne von 6-, 5-, 5-, 4-, 4-tägiger Trockenheit ein, im ganzen 5 mm (für eine Person nimmt man 1 mm). Im Breslauer Institut führt man am 1. Tage 4 mm von 4-tägigem Hirn ein, in Warschau 10 mm von 6- und 4-tägigen Hirnen. Wenn man also die Warschauer Dose einspritzt, so kann der Moskauer Patient 5 Tage ausruhen und braucht zur folgenden Impfung erst am 6. Tage zu erscheinen. An diesem Tage erhielt der Patient in Warschau die Hirne von 4- und 3-tägiger Trockenheit, also ebenfalls 10 mm. Das Moskauer Institut kann, nachdem diese Menge der erwähnten Hirne eingespritzt worden ist, seinen Patienten 5 Tage Ruhe geben. Es kann also vorkommen, daß

1) Die Grundzüge der Schutzimpfungen gegen die Tollwut. Charkow 1888.

in Moskau während dieses Zeitraumes der Patient zweimal 2-tägige Hirne bekommt. Für uns sprechen aber die Pariser, Petersburger und Ufaer Institute, welche keine Hirne von 2-tägiger Trockenheit verwenden. Das Moskauer Institut spritzt nicht 4- und 3-tägige, sondern 3- und 2-tägige Hirne ein; im Breslauer und Kiewer Institut werden die 2-tägigen Hirne schon am 3. Tage eingespritzt, in Odessa am 2. Tage vom Anfange der Impfungen, wo noch keine Rede von einer Vorbereitung des Organismus für diese Hirne sein kann.

Bei weiteren Impfungen kann man nach je 5 Tagen noch stärkere 2- und 1-tägige Hirne verwenden.

Was die Dauer der Vaccination anbetrifft, so soll sie, wie auch jetzt, von der vermuteten Ernsthaftigkeit der durch tolle Tiere verursachten Wunden abhängen.

In leichten Fällen kann man sich mit 3 Einimpfungen begnügen, in mittleren und schweren mit 4—7 und mehr. Bei den Bissen ins Gesicht und denen der Wölfe kann man die Vaccination unmittelbar mit den Hirnen von 3- und selbst von 2-tägiger Trockenheit beginnen. Dafür sprechen die Schemata der Warschauer, Breslauer, Kiewer und Odessaer Institute, welche am zweiten Tage die Hirne der oben erwähnten Stärke verwenden.

Welches Schicksal der von mir vorgeschlagenen neuen Methode der Vaccination gegen die Tollwut zuteil wird, wird die Zukunft zeigen.

Zur Zeit aber gestatten die von mir zusammengebrachten Angaben über die bedeutende Anzahl der Pasteur-Institute und die angeführten theoretischen Auseinandersetzungen zu den 6 oben ausgesprochenen Sätzen noch einen 7. hinzuzufügen, über die Notwendigkeit, die Vertreter der russischen Pasteur-Institute zusammenzurufen, um zusammen mehrere wichtige Punkte der Pasteurschen Impfungen gegen die Tollwut zu bearbeiten.

Nachdruck verboten.

Ueber die bakterielle Hämagglutination (Bakterio-Haemagglutination).

[Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der königl. Universität zu Bologna. (Direktor: Prof. G. Tizzoni.)]

Von Dr. G. Guyot, 1. Assistenten.

Bis jetzt hat man mit einer gewissen Breite zwei Gruppen von Substanzen unterschieden, die unter geeigneten Bedingungen die roten Blutkörperchen zu agglutinieren vermögen, nämlich die Sera und einige Stoffe pflanzlichen Ursprunges.

Die Serohämagglutination, die zuerst von Creite und Landois gesehen und in die wissenschaftlichen Forschungsmethoden durch die originellen Beobachtungen von Bordet eingeführt ist, regte in diesen letzten Jahren zahlreiche Beobachter (Bordet, Malkoff, Sick, v. Baumgarten, Ascoli, Bexheft, Bifi, Camus und Pagniez, Decastello und Sturli, Eisenberg, Klein, Landsteiner, Schenk, Lüdke, Rissling und andere¹⁾ zu Untersuchungen an, deren

1) Die Literatur über die Serohämagglutination findet sich ausführlich in den letzten Arbeiten von Lüdke (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 3)

Arbeiten zur Kenntnis der (Hetero-, Iso- und Auto-) Hämagglutinine der normalen und der Hämagglutinine der Immunsera beitrugen.

Ueber die Hämagglutination durch Substanzen pflanzlichen Ursprunges besitzen wir auch eine Reihe von Arbeiten, zu denen die Beobachtungen im Laboratorium von Kober den Anstoß gegeben haben. Man hatte hier nämlich gefunden, daß gewisse pflanzliche Eiweißstoffe (Phytalbumosen), wie z. B. das Ricin, Abrin, Robin, Croton und Phallin, die Eigenschaften besitzen, die roten Blutkörperchen zu agglutinieren und in den meisten Fällen aufzulösen. In dieser Gruppe scheinen uns von besonderem Interesse die neuesten Beobachtungen von Landsteiner und Raubitschek¹⁾ über den Gehalt der Samen vieler Papilionaceen an nicht hämolysierenden Hämagglutininen zu sein; denn während sie unsere Kenntnisse von der Zahl der pflanzlichen Hämagglutinine erweitern und uns annehmen lassen, daß man später auch noch andere entdecken wird, zeigen sie uns einen Weg beim Studium der Trennung von Hämagglutination und Hämolysen, Erscheinungen, die von den meisten bis jetzt als eng miteinander verbunden, um nicht zu sagen, als voneinander abhängig aufgefaßt worden sind.

Mitten unter den jetzt schon zahlreichen Veröffentlichungen über die Hämagglutination sowohl durch Sera, wie auch durch pflanzliche Agglutinine finden wir eine isolierte, man kann sagen, kaum skizzierte Untersuchung über die bakterielle Hämagglutination, die von Kraus und Ludwig vor 6 Jahren publiziert worden ist (über Bakteriohämagglutinine und Antihämagglutinine. — Wien. klin. Wochenschr. 1902). Hier fassen die Autoren ihre Beobachtungen in folgenden Schlüssen zusammen:

1) Verschiedene Mikroorganismen produzieren neben den Hämolysinen auch noch Hämagglutinine.

2) Die Hämagglutinine sind ebenso labil, wie die Hämolysine, da sie bei 58° zerstört werden.

3) Das normale Serum der Tiere besitzt im allgemeinen nicht die Eigenschaft, die Hämagglutination zu paralisieren, wohl aber kann es die Hämolysen paralisieren.

4) Die Hämagglutinine werden in derselben Weise, wie die Hämolysine von den Immunseris paralisiert.

5) Beide Prozesse bestehen für sich und äußern sich unabhängig voneinander.

6. Es besteht keine Beziehung zwischen Hämolysen und Hämagglutination.

Niemandem kann die Bedeutung entgehen, die man beim Studium der Hämagglutination — die einen Teil der Immunitätslehre bildet — den Befunden von Kraus und Ludwig hinsichtlich der bakteriellen Hämagglutination beilegen mußte. Man muß sich deshalb wundern, daß sich an die Untersuchungen der erwähnten Autoren nicht andere angeschlossen haben, um das Studium dieses Gegenstandes zu vertiefen und auszudehnen. Wir konnten uns das Bestehen dieser Lücke nur durch die Annahme erklären, daß andere Beobachter wahrscheinlich keine Bakterien-

und von Rissling (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907. Heft 7) angeführt, welche der Leser zu Rate ziehen kann.

1) K. Landsteiner und H. Raubitschek. Beobachtungen über Hämolysen und Hämagglutination (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. Heft 7). In dieser Arbeit sind die wichtigsten Veröffentlichungen über die pflanzlichen Hämagglutinine erwähnt. Dieses Thema ist, abgesehen von den Originalarbeiten, auch ausführlich von Sachs in den „Ergebnissen der allgemeinen Pathologie und pathologische Anatomie von Lubarsch und Ostertag. Jahrgang 7“ behandelt.

stämme in die Hand bekommen haben, welche die besondere Eigenschaft, die roten Blutkörperchen zu agglutinieren, besaßen.

Schon im vergangenen Jahre hatte ich Gelegenheit, aus dem Blute, dem Harn und den Faeces einer Frau, die an fieberhafter Anämie nach rekurrerender Cystitis und Enteritis litt, einen Bacillus zu isolieren, der in hohem Grade die Eigenschaft besaß, die roten Blutkörperchen zu agglutinieren, einen Bacillus, den man in die schwer zu umgrenzende *Bacterium coli*-Gruppe bringen kann. Ich erwog hiernach die Annahme, daß die beobachtete Anämie in irgend einer Beziehung zu der agglutinierenden Wirkung des Bakteriums auf die zirkulierenden roten Blutkörperchen stehen könnte¹⁾. Ich stellte dann experimentelle Untersuchungen darüber an, ob die Kulturen des hämagglutinierenden Bakteriums bei Tieren (Affen), deren Blutkörperchen in vitro für die Agglutination empfänglich waren, nach Einführung auf gastrischem oder subkutanem Wege Veränderungen in der Blutmischung hervorriefen. Das Resultat war negativ und die Tiere ertrugen die Einimpfung des hämagglutinierenden Bakteriums ohne nennenswerte Schädigungen. Während meine Untersuchungen nach dieser Richtung hin fehlschlagen, kam ich in ihrem Verlaufe in den Besitz anderer Bakterienstämme, welche das Hämagglutinationsvermögen besaßen. Da nun unsere Kenntnisse über die bakterielle Hämagglutination noch sehr spärlich sind, so schien es mir angebracht zu sein, einige Untersuchungen hierüber anzustellen, welche ich in den vorliegenden Mitteilungen zusammenfassen will.

* * *

I. Versuche über das Hämagglutinationsvermögen verschiedener Bakterienstämme gegenüber den roten Blutkörperchen verschiedener Tierspecies.

Ich habe Hämagglutinationsversuche mit 26 verschiedenen Bakterienstämmen angestellt, und zwar mit

- 18 Stämmen der *Bacterium coli*-Gruppe
- 4 " " *Bacillus typhi*-Gruppe
- 2 " " *Staphylococcus pyogenes aureus*-Gruppe
- 1 Stamme " *Pneumococcus*-Gruppe
- 1 " " *Meningococcus*-Gruppe.

Unter den 18 Stämmen des *Bacterium coli* nenne ich 8 Proben (l, m, n, o, p, q, r, s der folgenden Tabelle), welche mir gütigst vom hygienischen Institut zu Kiel geliefert wurden und einen Teil der 139 von Arnold Burk²⁾ isolierten und eingehend studierten Coli-Stämme bilden. Ich danke an dieser Stelle für das freundliche Entgegenkommen der Direktion des Institutes und im besonderen Herrn Dr. Reiner Müller, der die Versendung besorgte. Die anderen Coli-Stämme rühren teils aus dem bakteriologischen Laboratorium der medizinischen Klinik zu Genua her — der ich früher angehörte — teils sind sie von mir in diesem Laboratorium isoliert worden. Aus Genua stammen auch die 4 Stämme des Typhusbacillus, die 2 Staphylokokkenstämme und der Meningokokkenstamm. Den Pneumokokkenstamm verdanke ich der Freundlichkeit meines Chefs, des Direktors dieses Instituts.

Von jedem Stamme wurden die hauptsächlichsten morphologischen

1) Guyot, G., Singolare reperto batteriologico in un caso di anemia febbrile con cistite. (Bollettino della R. Accademia medica di Genova. 1907. p. 158.)

2) Burk, Arnold, Untersuchungen über Bakterien der Coli-Gruppe. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 7.)

Eigenschaften untersucht, die ich hier aber nicht anführe, da sie für die hier behandelte Frage nur eine nebensächliche Bedeutung haben.

Mit den genannten Bakterienstämmen wurden jedesmal die roten Blutkörperchen von 13 verschiedenen Tierspecies (vergl. die folgende Tabelle) in Berührung gebracht.

Zu diesen Hämagglutinationsversuchen habe ich eine Emulsion der einzelnen Bakterienstämme in dem Kondensationswasser der betreffenden Agarkultur verwandt. Die Dichtigkeit der Emulsion war in der Weise bemessen, daß sie annähernd der Emulsion einer Oese Bakterienbelag in 1 ccm Flüssigkeit entsprach. Die roten Blutkörperchen erhielt ich durch Defibrinierung, wusch sie wiederholt und stellte eine Suspension in wässriger Salzlösung (0,80 Proz. NaCl) her. Die Dichtigkeit entsprach dem Verhältnisse von 5 Proz. Aus Gründen der Bequemlichkeit und Zeitersparnis wählte ich die Methode der Beobachtung ex tempore (1—5 Minuten) im hängenden oder einfach auf ein Deckglas gebrachten Tropfen. Die reagierenden Körper — Bakterien und rote Blutkörperchen — wurden zu gleichen Teilen (der entsprechenden Emulsion) gemischt.

In der folgenden Tabelle habe ich die mit den 18 *Bacterium coli*-Stämmen erhaltenen Resultate aufgeführt:

| | a | b | c | d | e | f | g | h | i |
|-----------------|-----|-----|-----|-----|----|-----|---|---|----|
| Mensch | +++ | — | — | ++ | — | + | — | — | ++ |
| Affe | ++ | + | — | ++ | — | + | — | — | + |
| Schwein | ++ | ++ | — | + | — | + | — | — | + |
| Meerschweinchen | + | +++ | — | +++ | ++ | +++ | = | — | — |
| Kaninchen | = | +++ | + | + | — | ++ | — | — | — |
| Pferd | + | +++ | — | ++ | — | ++ | — | — | — |
| Kalb | — | + | +++ | + | — | — | — | + | — |
| Ziege | — | + | + | + | — | + | — | — | — |
| Schaf | — | + | + | + | — | + | — | — | — |
| Hund | = | ++ | — | + | — | + | — | — | — |
| Ratte | = | ++ | — | ++ | — | ++ | — | — | — |
| Huhn | — | + | — | ++ | — | + | — | + | — |
| Frosch | — | ++ | + | + | — | ++ | — | — | — |

| | k | l | m | n | o | p | q | r | s |
|-----------------|---|---|---|---|-----|-----|---|-----|-----|
| Mensch | — | — | — | — | + | — | — | + | + |
| Affe | — | — | — | — | + | — | — | ++ | ++ |
| Schwein | — | — | — | — | ++ | ++ | — | ++ | ++ |
| Meerschweinchen | — | — | — | — | ++ | +++ | — | +++ | ++ |
| Kaninchen | — | — | — | — | ++ | + | — | ++ | ++ |
| Pferd | — | — | — | — | +++ | ++ | — | +++ | +++ |
| Kalb | — | — | — | — | ++ | + | — | + | ++ |
| Ziege | — | — | — | — | + | + | — | ++ | ++ |
| Schaf | — | — | — | — | + | + | — | ++ | ++ |
| Hund | — | — | — | = | ++ | ++ | — | +++ | ++ |
| Ratte | — | — | — | — | + | ++ | = | ++ | +++ |
| Huhn | — | — | — | — | + | + | — | + | ++ |
| Frosch | — | — | — | — | ++ | + | — | ++ | ++ |

+ bedeutet Agglutination positiv
 ++ „ „ stark
 +++ „ „ sehr stark
 = „ „ ungewiß
 — „ „ negativ

Mit den 4 Typhus-, den 2 Staphylokokkenstämmen, dem *Pneumococcus*- und dem *Meningococcus*-Stamm erhielt ich immer negative Resultate, d. h. die Hämagglutination war mit allen Arten von Blutkörper-

chen negativ. Der Kürze halber lasse ich die graphische Darstellung der Ergebnisse fort.

Aus der obigen Tabelle geht hervor, daß von den 18 von mir untersuchten Colistämmen 12 die Fähigkeit zeigen, die roten Blutkörperchen entweder desselben Tieres oder jene anderer Tierspecies oder auch verschiedener Tierspecies in derselben Zeit zu agglutinieren. Hiermit ist das Vorhandensein hämagglutinierender Bakterien der Coli-Gruppe bewiesen.

* * *

II. Untersuchungen über die Agglutinabilität der roten Blutkörperchen verschiedener Individuen derselben Species.

Um zu bestimmen, ob die roten Blutkörperchen verschiedener Individuen derselben Species gegenüber ein und demselben Bakterium in gleicher Weise für die Agglutination empfänglich wären, habe ich mit denselben Coli-Stämmen der vorhergehenden Versuche die roten Blutkörperchen von 6 Menschen, 2 Affen, 4 Schweinen, 10 Meerschweinchen, 10 Kaninchen, 10 Pferden, 4 Kälbern, 2 Ziegen, 4 Schafen, 6 Hunden, 4 Ratten, 2 Hühnern und 6 Fröschen untersucht. In allen Versuchsreihen, die unter denselben Bedingungen ausgeführt waren, stimmten die Resultate vollkommen überein. Es wird hier die Anführung zweier Beispiele, des Meerschweinchens und des Pferdes, genügen.

| Meerschweinchen | a | b | c | d | e | f | g | h | i |
|-----------------|---|-----|---|-----|----|-----|---|---|---|
| 1 | + | +++ | — | +++ | ++ | +++ | = | — | — |
| 2 | + | +++ | — | +++ | + | +++ | = | — | — |
| 3 | + | +++ | — | +++ | + | +++ | — | — | — |
| 4 | + | +++ | — | +++ | ++ | +++ | — | — | — |
| 5 | = | +++ | — | +++ | ++ | +++ | — | — | — |
| 6 | + | +++ | — | +++ | + | +++ | — | — | — |
| 7 | + | +++ | — | +++ | ++ | +++ | — | — | — |
| 8 | + | +++ | — | +++ | + | +++ | — | — | — |
| 9 | + | +++ | — | +++ | + | +++ | — | — | — |
| 10 | + | +++ | — | +++ | + | +++ | — | — | — |

| Meerschweinchen | k | l | m | n | o | p | q | r | s |
|-----------------|---|---|---|---|----|-----|---|-----|-----|
| 1 | — | — | — | — | ++ | +++ | — | +++ | +++ |
| 2 | — | — | — | — | ++ | +++ | — | +++ | +++ |
| 3 | — | — | — | — | ++ | +++ | — | +++ | +++ |
| 4 | — | — | — | — | ++ | +++ | — | ++ | +++ |
| 5 | — | — | — | — | ++ | ++ | — | +++ | +++ |
| 6 | — | — | — | — | ++ | +++ | — | +++ | ++ |
| 7 | — | — | — | — | + | +++ | — | +++ | +++ |
| 8 | — | — | — | — | ++ | +++ | — | ++ | +++ |
| 9 | — | — | — | — | ++ | +++ | — | +++ | ++ |
| 10 | — | — | — | — | ++ | +++ | — | +++ | +++ |

| Pferderasse | a | b | c | d | e | f | g | h | i | k | l | m | n | o | p | q | r | s |
|-------------------|----|-----|---|----|---|----|---|---|---|---|---|---|---|-----|----|---|-----|-----|
| Englisch | + | +++ | — | ++ | — | ++ | — | — | — | — | — | — | — | +++ | ++ | — | +++ | ++ |
| Normannisch | + | +++ | — | + | — | ++ | — | — | — | — | — | — | — | ++ | ++ | — | +++ | +++ |
| Nord-Amerikanisch | + | +++ | — | ++ | — | + | — | — | — | — | — | — | — | +++ | ++ | — | +++ | +++ |
| Maremmatisch | ++ | +++ | — | ++ | — | ++ | — | — | — | — | — | — | — | +++ | ++ | — | +++ | +++ |
| Ungarisch | + | +++ | — | + | — | ++ | — | — | — | — | — | — | — | +++ | + | — | +++ | +++ |

Nicht ohne Bedeutung ist die Bemerkung, daß unter den Tieren, die mir die roten Blutkörperchen lieferten, manche sich nicht unter physiologischen Bedingungen befanden, da sie krank oder gegen Infektionskrankheiten immunisiert worden waren. Die Beobachtung zeigte nun, daß die roten Blutkörperchen dieser Tiere in denselben Verhältnissen und ebenso wie die entsprechenden gesunder Individuen derselben Species reagierten. Unter den Pferden wählte ich absichtlich Individuen verschiedener Rassen aus, um zu sehen, ob durch die Rasse irgend ein Unterschied in der Agglutination bedingt würde. Die betreffende, oben angeführte Tabelle bezieht sich auf 5 verschiedene Pferderassen, und die Versuchsergebnisse zeigen, daß zwischen den Rassen keine nennenswerten Unterschiede bestehen. Aus allen diesen Untersuchungen geht hervor, daß die roten Blutkörperchen verschiedener Individuen derselben Species in gleicher Weise für die agglutinierende Wirkung der Bakterien empfänglich sind.

* * *

III. Untersuchungen zum Nachweise der wirksamen agglutinierenden Substanz — des Hämagglutinins — in den Kultur- und Emulsionsflüssigkeiten.

In dieser dritten Versuchsreihe — die auch die wichtigste meiner Arbeit ist — sollte untersucht werden, ob es möglich wäre, die wirksame Substanz — das Hämagglutinin — von den Bakterien selbst zu trennen, um vielleicht dadurch ihre Natur etwas aufzuklären.

Im Verlaufe der oben erwähnten Versuche, die, wie gesagt, mit einer Emulsion der Bakterien in dem Kondensationswasser der Agarkultur angestellt worden war, hatte ich zufällig wiederholt Gelegenheit, das Agglutinationsvermögen von Kulturen derselben Bakterien in Bouillon, in Peptonwasser, in Fleischwasser und auch von ihren Emulsionen in wässriger Salzlösung zu prüfen. Bei diesen Prüfungen zeigte es sich, daß die Agglutination, wenn auch in verschiedenem Grade, mit verschiedenen Vehikeln der Bakterien stattfinden kann, und zwar nicht nur mit eigentlichen Kulturflüssigkeiten, sondern auch mit wässriger Salzlösung (0,80-proz. physiologische Kochsalzlösung).

Es erhob sich nun die Frage, ob die wirksame Substanz in dem Vehikel als Sekretions- oder Stoffwechsel- oder einfaches Lösungsprodukt der Bakterien (in der Salzlösung) enthalten wäre. Zur Lösung dieser Frage habe ich verschiedene Untersuchungen vorgenommen, um festzustellen, ob überhaupt und in welchem Maße diese hämagglutinierende Substanz in der von den Bakterien befreiten Flüssigkeit enthalten wäre.

Zu diesem Zwecke habe ich jedesmal Emulsionen von Bakterien in dem Kondensationswasser der Agarkulturen, Bouillonkulturen und sowohl alte wie frische Emulsionen von Bakterien in wässriger Salzlösung verwandt. Nachdem ich mich von der hämagglutinierenden Wirkung des angewandten Materiales gegenüber bestimmten roten Blutkörperchen überzeugt und eine Probe davon zur Kontrolle entnommen hatte, filtrierte ich es durch eine Berkefeld-Kerze und fing das Filtrat in einem sterilen Röhrchen auf. Die auf der Kerze zurückgebliebenen Keime wusch ich wiederholt und nahm sie schließlich in wässriger Salzlösung auf, und zwar in der Weise, daß ich eine Suspension erhielt, die annähernd dieselbe Dichtigkeit wie das zur Filtration verwandte Material besaß. Ich unterwarf nun dem Agglutinationsversuche 1) die filtrierte Flüssigkeit, 2) die Emulsion der gewaschenen Bakterien, 3) das

Kontrollmaterial. Ich führe hier drei Beispiele der verschiedenen von mir angestellten Versuche an:

I.

Stamm d. Emulsion in dem Kondensationswasser der Agarkultur; rote Blutkörperchen vom Meerschweinchen.

| | | |
|----------------------|-----------------|-----|
| Filtrat | = Agglutination | — |
| Gewaschene Bakterien | = „ | +++ |
| Kontrolle | = „ | +++ |

II.

Stamm a. 4 Monate alte Bouillonkultur; rote Blutkörperchen vom Menschen.

| | | |
|----------------------|-----------------|-----|
| Filtrat | = Agglutination | — |
| Gewaschene Bakterien | = „ | +++ |
| Kontrolle | = „ | ++ |

III.

Stamm c. Emulsion in wässriger Salzlösung; rote Blutkörperchen vom Pferde.

| | | |
|----------------------|-----------------|-----|
| Filtrat | = Agglutination | — |
| Gewaschene Bakterien | = „ | +++ |
| Kontrolle | = „ | +++ |

Da ich alte Bouillonkulturen zur Verfügung hatte, in denen die Bakterien vollkommen oder fast vollkommen sedimentiert waren, stellte ich auch Agglutinationsversuche mit der klaren mittelst Pipette entnommenen Kulturflüssigkeit an, und verwendete dabei als Kontrolle dieselbe Flüssigkeit, die eine Bakteriensuspension mittleren Grades enthielt. Von diesen Versuchen gebe ich hier 2 wieder:

IV.

Stamm r. 4 Monate alte, sedimentierte Bouillonkultur; rote Blutkörperchen vom Kaninchen.

| | | |
|----------------------------------|-----------------|----|
| Bakterienfreie Kulturflüssigkeit | = Agglutination | — |
| Bakterienhaltige „ | = „ | ++ |

V.

Stamm c. 3 Monate alte sedimentierte Bouillonkultur; rote Blutkörperchen vom Pferde.

| | | |
|----------------------------------|-----------------|-----|
| Bakterienfreie Kulturflüssigkeit | = Agglutination | — |
| Bakterienhaltige „ | = „ | +++ |

Aus allen Versuchen geht übereinstimmend folgendes hervor: 1) In der Vehikelflüssigkeit einer Aufschwemmung von hämagglutinierenden Bakterien finden sich durchaus keine Hämagglutinine; 2) die von ihrem ursprünglichen Vehikel getrennten und wiederholt gewaschenen Bakterien verlieren durchaus nicht ihre hämagglutinierende Wirkung.

Die Schlüsse, welche sich aus diesen Befunden ergeben, sind insofern von großer Tragweite, als sie zeigen, daß die bakterielle Hämagglutination nicht etwa schon durch die Wirkung besonderer Substanzen (Hämagglutinine) wie Stoffwechsel-, Sekretions- oder Exkretionsprodukte der Bakterien eintritt, daß sie wohl aber durch Prozesse hervorgerufen wird, die sich zwischen dem Bakterium selbst und den roten Blutkörperchen abspielen.

IV. Untersuchungen über das Hämagglutinationsvermögen toter Bakterien.

Es blieb noch die Feststellung übrig, ob die Wirkung der hämagglutinierenden Bakterien auf die roten Blutkörperchen durch eine vitale Funktion bedingt oder eine Wirkung der chemisch-physikalischen Eigenschaften ihrer Bestandteile ist.

Ich suchte diese Frage durch Hämagglutinationsversuche mit toten Bakterien zu lösen.

Die ersten Versuche mit Bakterien, die durch Erhitzung auf 60—80° getötet worden waren, führten scheinbar zu der Annahme, daß die Häm-agglutination eine an das Leben der Bakterien gebundene Funktion sei, denn alle mit in dieser Weise getöteten Bakterien angestellte Versuche ergaben hinsichtlich der Agglutination ein negatives Resultat. Aber die Tötung der Bakterien mittelst Wärme schien mir nicht frei von Fehlerquellen zu sein, namentlich wenn man die Möglichkeit in Betracht zog, daß diejenige Bakteriensubstanz, welche die Agglutination hervorzurufen vermochte, durch die Wärme zersetzt oder in irgend einer Weise verändert werden könnte. Die Annahme eines solchen Vorganges war ferner durch die nunmehr über allem Zweifel erhabene Tatsache, daß die Wärme die Agglutinine des Blutserums zerstört, und ferner durch die ebenso bewiesene Tatsache gerechtfertigt, daß die pflanzlichen Hämagglutinine ebenfalls durch hohe Temperaturen zersetzt werden.

Ich suchte deshalb zur Tötung der Bakterien nach anderen Mitteln und fand als brauchbar das Formalin zu 10 Proz. Ich stellte nun Versuche mit formalisierten Bakterien an und benutzte hierzu vornehmlich die Coli-Stämme r und s. Setzte ich zu einer gewöhnlichen Emulsion dieser Bakterien Formalin im Verhältnisse von 1:10 hinzu, so trat nach wenigen Stunden ein Zusammenballen der Bakterien in Form von Flöckchen ein, welche mit Leichtigkeit am Boden eines sterilisierten Zentrifugenröhrchens gesammelt und dann unter den üblichen Kautelen mehrmals mit sterilisierter wässriger Salzlösung gewaschen wurden, bis sie frei von Formalin waren. Die Kulturen, welche mit derartigen wiederholt gewaschenen und in einer kleinen Menge sterilisierter Salzlösung aufgenommenen Bakterien angestellt worden waren, blieben sowohl auf Agar, wie in Bouillon negativ, ein Umstand, auf Grund dessen wir es als bewiesen ansehen können, daß die Bakterien in der Tat tot sind.

Mit einer passenden Emulsion derartiger Bakterien stellte ich Hämagglutinationsversuche an, indem ich mich zur Kontrolle einer homologen Emulsion lebender Bakterien bediente. In den folgenden Tabellen gebe ich nur zwei Beispiele der angestellten Versuche wieder:

I.

Stamm s. Aus alter Bouillonkultur; rote Blutkörperchen von Mensch, Affe, Meerschweinchen und Kaninchen.

| | Agglutination | |
|--------------------------------|---|-----------|
| | mit Bakt.,
durch Formalin
getötet | Kontrolle |
| Rote Blutkörperchen von Mensch | + | + |
| " " " Affe | ++ | ++ |
| " " " Meerschweinchen | +++ | +++ |
| " " " Kaninchen | +++ | ++ |

II.

Stamm r. Aus Emulsion in wässriger Salzlösung; rote Blutkörperchen von Mensch, Pferd, Meerschweinchen und Kaninchen.

| | Agglutination | |
|--------------------------------|---|-----------|
| | mit Bakt.,
durch Formalin
getötet | Kontrolle |
| Rote Blutkörperchen von Mensch | ++ | ++ |
| " " " Pferd | +++ | +++ |
| " " " Meerschweinchen | +++ | +++ |
| " " " Kaninchen | ++ | ++ |

Während diese Resultate eine Tatsache erkennen lassen, die an sich schon sehr wichtig ist und eine nützliche Anwendung bei anderen Versuchen finden kann, nämlich daß das Formalin die hämagglutinierende Substanz der Bakterien nicht verändert, beweisen sie — und das ist von grundlegender Bedeutung —, daß die Hämagglutination sehr wohl eintritt, wenn man Suspensionen von toten Bakterien verwendet, bei denen man Produkte irgend einer vitalen Tätigkeit, des Stoffwechsels, der Sekretion oder Exkretion ausschließen kann.

Diese letzten Versuche bestätigen und bekräftigen noch den vorhin ausgesprochenen Gedanken, daß nämlich die Erscheinung der Hämagglutination einer besonderen Reaktion zuzuschreiben ist, welche Körper an Körper zwischen den Bakterien und den roten Blutkörperchen stattfindet.

Man kann daher nicht von einem Hämagglutinin als einem besonderen Bakterienprodukt sprechen, das z. B. den von verschiedenen Autoren in den Kulturfiltraten verschiedener Mikroorganismen nachgewiesenen Hämolysinen analog ist. Und will man aus Bequemlichkeitsrücksichten den Ausdruck „bakterielles Hämagglutinin“ beibehalten, so wird man mit ihm jenen Teil oder jene Komponente des Bakterienkörpers selbst bezeichnen müssen, welche bei der Entstehung des Hämagglutinationsphänomens eine Rolle spielt.

Ob Kraus und Ludwig (loc. cit.) eine ähnliche Vorstellung von der Hämagglutinationserscheinung gehabt haben, läßt sich aus ihren Schlüssen nicht entnehmen. Der Umstand indessen, daß sie mit Bouillonkulturen der Bakterien in toto experimentiert haben, läßt annehmen, daß sie sich leicht — ohne Beweis — mit der Annahme der Existenz von Hämagglutininen, die in der Kulturflüssigkeit selbst gelöst sind, begnügt haben. Auch kann dieser Annahme nicht die Tatsache als Stütze dienen, daß es ihnen gelang, experimentell Anti-Hämagglutinine zu erhalten; denn durch die Injektion von unversehrten Kulturen eines Mikroorganismus kann man bei Tieren im Blutserum Antikörper sowohl der Kulturprodukte als auch der Bakterien selbst erhalten, und zwar in der Weise, daß man bei nochmaliger Prüfung der Antihämagglutininwirkung auch auf die unversehrte Kultur nicht unterscheiden kann, gegen welche Komponente der Kultur der Antikörper seine Wirkung richtet.

Der Beweis, den ich für das Nichtvorhandensein von Hämagglutininen in der bakterienfreien Kulturflüssigkeit erbracht habe, hat natürlich einen absoluten Wert nur für diejenige Bakterienspecies, Nährböden und Emulsionen, die von mir untersucht worden sind. Es ist nicht ausgeschlossen, daß es bei anderen Mikroorganismen und anderen Vehikeln gelingt, aus den Bakterienzellen die betreffende wirksame Substanz zu extrahieren. Ein in diesem Sinne unternommener, von Erfolg gekrönter Versuch wird dem Studium der Hämagglutination sehr förderlich sein und uns vielleicht über die chemische oder physikalische Natur des Prozesses, der das Agglutinationsphänomen im allgemeinen beherrscht, Aufklärung bringen können.

*

*

*

V. Untersuchungen über den Einfluß der Reaktion (sauer, basisch oder neutral) des Mediums auf die Hämagglutination.

Kürzlich versuchte v. Liebermann¹⁾ beim Studium der Anti-

1) v. Liebermann, Ueber Hämagglutination und Hämatolyse. (Arch. f. Hygiene. Bd. LXII, 1907.)

körper einen neuen Weg einzuschlagen, indem er nämlich die gesamten Immunitätsvorgänge auf analytischem Wege durch Zurückführung auf chemische Reaktionen zu erklären suchte. Er begann mit der Untersuchung bekannter Substanzen, wie des Ricins, der kolloidalen Kieselsäure und des Saponins, und glaubte, die hämagglutinierende und hämolysierende Wirkung dieser Substanzen auf die Rechnung der Säure setzen zu können, die in diesen Substanzen, wie z. B. dem Ricin enthalten ist. Nach seiner Ansicht würde der Prozeß der Hämagglutination und Hämolysen durch die Verbindung der Säure des Präparates mit der Base (Stroma) des roten Blutkörperchens stattfinden. Auf Grund welchen Vorganges diese Verbindung das Zusammenballen und die Präzipitation der roten Blutkörperchen hervorrufen muß, ist nicht gezeigt worden, wenn auch der Autor auf die Analogie mit anderen durch die Wirkung einer Säure bedingten Präzipitationen hinweist und annehmen läßt, daß die Erscheinung hier größtenteils auf die Viskosität der roten Blutkörperchen zurückzuführen ist. Für die Hämolysen würde die Sache einfach liegen und sich durch die Annahme erklären, daß die saure Gruppe in Verbindung mit der Base des roten Blutkörperchens tritt und dadurch das Hämoglobin, dessen Stelle sie dann einnimmt, aus der Zelle vertreibt.

Dieser Anschauungsweise hält Eisler¹⁾ eine Reihe von Argumenten entgegen, mit welchen er zeigt, daß der Prozeß in der Tat nicht so einfach ist, wenn auch die Prinzipien, von denen die Folgerungen v. Liebermanns ausgehen, nicht anzufechten sind, wie z. B. die saure Reaktion des Ricins und die tatsächliche Entziehung dieser Azidität durch die agglutinierten roten Blutkörperchen.

Auch Kurt Meyer²⁾ bekämpft in einer jüngst erschienenen Mitteilung die Vorstellung v. Liebermanns und behauptet auf Grund von Ergänzungsversuchen, den Resultaten, die man mit dem Ricin erhält, eine von der Liebermannschen abweichende Erklärung geben zu müssen. Nicht in der Absicht, in eine Erörterung dieser Frage einzutreten, sondern lediglich um festzustellen, ob vielleicht die Agglutination auf die Reaktion der Bakterienaufschwemmung zurückzuführen wäre, glaubte ich, einige Versuche in diesem Sinne anstellen zu müssen. Zu diesen Versuchen wurde ich besonders durch den Umstand veranlaßt, daß die von mir verwandten Agar- und Bouillonkulturen eine deutlich saure Reaktion hatten, und zwar besonders, wenn sie frisch waren. Und auch abgesehen von den besonderen Beobachtungen v. Liebermanns ist es bekannt, daß Lösungen von einer angemessenen Azidität die roten Blutkörperchen agglutinieren können, eine Tatsache, die noch durch die Versuche Eislers (loc. cit.) bestätigt wird. Im Gegensatz hierzu wurde ferner ebenso bewiesen — die Versuche v. Liebermanns legen hierfür Zeugnis ab —, daß auch die alkalischen Lösungen in passender Konzentration dieselbe Eigenschaft, die roten Blutkörperchen zu agglutinieren, besitzen. Das Auftreten der Erscheinung durch die Wirkung von Substanzen der entgegengesetzten chemischen Natur würde dann wahrscheinlich auf der von Hamburger, Hedin u. a.³⁾ klargestellten Tatsache beruhen, daß nämlich die roten Blutkörperchen sowohl für die Säuren als auch für die Basen durchgängig sind.

1) Eisler, Ist die Hämagglutination und Hämolysen, durch Ricin und Hämolysin hervorgerufen, eine Säurewirkung? (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVI. 1908. Heft 4.)

2) Meyer, Kurt, Ueber die Säurenatur der hämolysierenden Immunkörper. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLVI. 1908. Heft 4.)

3) Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre.

Zieht man all diese Dinge in Betracht, so war es vollauf berechtigt, einige Versuche darüber anzustellen, ob überhaupt und in welchem Maße die Reaktion des Mediums — sauer oder alkalisch — bei der Häm-agglutinationserscheinung eine Rolle spielt.

Zu diesem Zwecke nahm ich vergleichende Hämagglutinationsversuche vor, indem ich ursprünglich saure Kulturen verwandte, von denen ein Teil sauer blieb und zwei Teile mittels $\frac{1}{10}$ Normalnatronlösung neutral und alkalisch gemacht wurden. Ich gebe hier zwei Beispiele der Versuche wieder:

I.

Stamm r. 4 Monate alte saure Bouillonkultur; rote Blutkörperchen vom Meerschweinchen.

| | | | |
|-------------------|---|---------------|-----|
| Saure Reaktion | = | Agglutination | +++ |
| neutrale Reaktion | = | „ | +++ |
| alkalische „ | = | „ | +++ |

II.

Stamm a. Im Kondensationswasser einer frischen 24 Stunden alten Kultur, saure Reaktion; rote Blutkörperchen von Mensch, Pferd, Schwein und Meerschweinchen.

| | Rote Blutkörperchen von | | | |
|-------------------|-------------------------|-------|---------|-----------------|
| | Mensch | Pferd | Schwein | Meerschweinchen |
| Saure Reaktion | +++ | — | + | — |
| neutrale Reaktion | +++ | — | ++ | — |
| alkalische „ | +++ | — | + | — |

Das Resultat dieser vergleichenden Versuche ist klar:

Die Reaktion des Mediums beeinflusst weder das Auftreten noch die Intensität der Hämagglutination in nennenswerter Weise.

Die Tatsache übrigens, daß eine intensive Hämagglutination auch eintritt, wenn ich als Vehikel wässrige Salzlösung mit neutraler Reaktion verwandte, könnte schon als Beweis dafür genügen, daß die saure Reaktion zum Eintreten der Hämagglutination nicht erforderlich ist.

Ich beabsichtige nun nicht diese Resultate als Beweis gegen die Theorie v. Liebermanns anzuführen; im Gegenteil, da, wie eben gezeigt ist, das Vehikel bei der Hämagglutination keine Rolle spielt, sondern nur der Bakterienkörper, so kann man nicht von vornherein ausschließen, daß vielleicht das Bakterium irgend eine saure Molekülgruppe enthält, welche deutlich eine besondere Affinität zu der Base (Stroma) der roten Blutkörperchen besitzt, so daß sie auf diese Weise die Agglutination im Sinne v. Liebermanns hervorrufen kann. Aber auf dieselbe Weise könnte auch aus leicht ersichtlichen Gründen eine alkalische Gruppe die Agglutination hervorrufen.

Diese Hypothesen weisen uns wohl auf ein Versuchsgebiet über den Mechanismus der Bakteriohämagglutination hin, aber sie tragen nicht zur Lösung der von v. Liebermann aufgeworfenen Frage bei.

* * *

VI. Untersuchungen über die Variabilität des Hämagglutinationsvermögens der Bakterien.

In Beziehung zu den vorhergehenden Untersuchungen will ich noch auf einige Tatsachen hinweisen, die ich im Verlaufe meiner Untersuchungen feststellen konnte. Beim Experimentieren mit den in verschiedenen Vehikel gebrachten Bakterien, oder auch in Zwischenräumen mit denselben Kulturen und den entsprechenden Bakterienemulsionen

stellte ich wiederholt fest, daß, wenn man nur immer dieselben roten Blutkörperchen verwandte, die Agglutination sich in verschiedener Intensität zeigte und manchmal derartig variierte, daß die Bezeichnungen in der Agglutinationsskala verschiedener Species von roten Blutkörperchen sich verschoben. Nach Ausschaltung der möglichen, durch die Technik bedingten Fehlerquellen habe ich immer diese Tatsache bestätigen können; zur Bekräftigung führe ich die folgende Tabelle an:

Stamm a in { Kondensationswasser einer Agarkultur
wässriger Salzlösung;
rote Blutkörperchen von Pferd, Meerschweinchen, Affe und Mensch.

| | Bakterien in
Kondensationswasser
einer Agarkultur | Bakterien
in wässriger
Salzlösung |
|-------------------------------|---|---|
| Rote Blutkörperchen von Pferd | + | — |
| " " " Meerschweinchen | +++ | + |
| " " " Affe | ++ | +++ |
| " " " Mensch | + | +++ |

Die festgestellten Schwankungen in der Intensität der Hämagglutination hängen manchmal, den Beobachtungen nach, entweder von Substanzen ab, welche das Auftreten dieses Phänomens begünstigen, oder von solchen, welche dasselbe hemmen. Wahrscheinlich üben auch hier die Salze und ihre Konzentration denselben Einfluß aus, den sie auf die Agglutination der Bakterien ausüben (Bordet, Levaditi, Joos, Friedberger, Eisenberg und Volk u. a.); andererseits ist es auch möglich, daß sich in den Kulturen Substanzen bilden, die gegenüber den Hämagglutininen antagonistisch wirken. Aber die Untersuchung und der analytische Nachweis derjenigen Faktoren, die für die Schwankungen der Hämagglutination verantwortlich zu machen sind, wird durch eine Reihe von Schwierigkeiten gehemmt, die durch die Kompliziertheit des Untersuchungsmaterials bedingt sind. Ich glaubte daher, mich auf die einfache Feststellung der Tatsache beschränken zu können, ohne eine Untersuchung der Ursachen vorzunehmen. Die Kenntnis dieser Tatsache ist praktisch wichtig und nützlich, da sie uns darauf hinweist, bei ähnlichen Versuchen, soweit es möglich ist, immer ein bestimmtes Bakterien-Vehikel zu verwenden.

* * *

VII. Ueber die Einheit oder Vielheit des Hämagglutinationsvermögens der Bakterien.

Bekanntlich haben hinsichtlich der Serumhämagglutinine einige Beobachter (Bordet, Nolf, Malkoff, Joos, Bail, Radziwsky) nachweisen können, daß die Serumhämagglutinine den Charakter der Spezifität haben, d. h. daß sie nur auf eine einzige Art von roten Blutkörperchen wirken und daß, wenn ein Serum die Fähigkeit besitzt, die roten Blutkörperchen verschiedener Tierspecies zu agglutinieren, diese Eigenschaft dadurch bedingt ist, daß in diesem Serum ebensoviel verschiedene Hämagglutinine wie Arten der agglutinierten roten Blutkörperchen vorhanden sind. Es erhob sich nun die Frage, ob es sich auch hinsichtlich der pluriagglutinierenden Bakterien um eine Einheit oder eine Vielheit von hämagglutinierender Wirksamkeit handelte. Ich bin an die Lösung dieser Frage mittels Untersuchungen herangegangen, die nach der üblichen klassischen Methode von Ehrlich und Morgenroth angestellt wurden, d. h. mittels des Absorptionsverfahrens. Zu diesem Zwecke habe ich einen Stamm ausgewählt, der in verschiedenem

Maße die roten Blutkörperchen verschiedener Tierspecies agglutinierte, und habe seiner Emulsion nach und nach sovieler rote Blutkörperchen hinzugefügt, wie davon agglutiniert wurden. Nach einer Ruhepause von einer Stunde vervollständigte ich die Sedimentierung mit Hilfe der Zentrifuge und hob dann die Flüssigkeit, welche die Bakterien enthielt, mit der Pipette ab. Diese Flüssigkeit agglutinierte nicht nur nicht mehr andere rote Blutkörperchen der Species derjenigen, mit denen sie zuerst in Kontakt gewesen war, sondern sie agglutinierte auch nicht mehr rote Blutkörperchen einer anderen Species, welche in geringerem Grade für die Agglutination der entsprechenden Bakterien empfänglich waren. In einem anderen Versuche brachte ich mit einem anderen Teile derselben Bakterienemulsion zuerst wenig agglutinierbare rote Blutkörperchen in Kontakt und setzte dieselben bis zur Erschöpfung der Agglutination hinzu. Nach der Sedimentierung der roten Blutkörperchen und der Abhebung der Bakterien mittels Pipette brachte ich eine neue Art von roten Blutkörperchen, die in höherem Maße agglutiniierbar waren, in Kontakt mit denselben. Es trat dann noch eine Agglutination der zweiten roten Blutkörperchen ein, wenn auch nicht so intensiv wie bei der Anwendung einer noch nicht gebrauchten Bakterienemulsion; es fand auch noch eine Agglutination statt, wenn nach und nach rote Blutkörperchen verwandt wurden, die in höherem Grade für die Agglutination empfänglich waren. In allen diesen Versuchen trug ich natürlich der Konzentration Rechnung, in welcher die Bakterien in den aufeinanderfolgenden Mischungen zu finden waren, und suchte die Verdünnung in passender Weise durch Verwendung einer entsprechenden Menge des Materials auszugleichen.

Welche Schlüsse kann man nun aus ähnlichen Resultaten ziehen?

Die Tatsache, daß stark agglutinierbare rote Blutkörperchen den Bakterien ihre gesamte wirksame Substanz entziehen, muß meiner Meinung nach bei der Entscheidung der Frage eine wichtige Rolle spielen und berechtigt zu der Annahme, daß es sich um eine einzige wirksame Substanz handelt. Experimentiert man in aufsteigender Skala mit roten Blutkörperchen verschiedener Agglutinabilität und sind alle absorbierbaren Hämagglutinine mittels einer bestimmten Menge von Blutkörperchen absorbiert, so ist es noch immer möglich, mit den übriggebliebenen Bakterien rote Blutkörperchen einer anderen empfindlicheren Species zu agglutinieren. Diese Erscheinung läßt sich durch die Annahme erklären, daß in diesem Falle die — physikalischen oder chemischen — Bedingungen unzureichend sind, durch deren Mitwirkung die Verbindung zwischen agglutinogener und agglutinierbarer Substanz stattfindet. Die Reaktion wird daher unterbrochen, wenn diese Bedingungen nicht vorhanden sind, tritt aber mit anderen Blutkörperchen von neuem wieder auf, wenn gegenüber diesen dieselben Bedingungen wieder günstig sind. Möglicherweise findet etwas ähnliches statt, wie bei der Agglutination der Bakterien unter der Wirkung des Salzes (Joos, Eisenberg und Volk, Bordet). Setzt man nämlich zu einer Mischung von Agglutininen und Bakterien Salz in fraktionierter Dose hinzu, so beobachtet man, daß eine fraktionierte Agglutination der Bakterien und zwar in einer Menge eintritt, welche der des eingeführten Salzes sukzessiv proportional ist; ist dagegen die Salzmenge gleich von vornherein für eine vollkommene Agglutination ausreichend, so tritt dieselbe sofort in ihrem ganzen Umfange ein. Findet sich also in dem Falle der bakteriellen Hämagglutination das Hämagglutinin unter solchen

Bedingungen, daß es ganz und gar eine Verbindung mit den roten Blutkörperchen eingehen kann, so wird es erschöpft; dagegen geht es fraktioniert nach und nach auf die roten Blutkörperchen über, wenn dieselben in aufeinanderfolgenden Zeiten imstande sind, dasselbe zu absorbieren.

Wenn wirklich in den Bakterien gleichzeitig verschiedene spezifische, auf die roten Blutkörperchen verschiedener Tierspecies wirkende Substanzen vorhanden wären, so würde dies wieder nicht erklären, weshalb eine einzige Art von roten Blutkörperchen das eigene Agglutinin und die anderen Agglutininarten absorbieren kann. Der Gegensatz ferner zwischen der Einheit der Bakteriohämagglutinine und der Vielheit der Serumhämagglutinine kann nicht die Möglichkeit einer Einheit unwahrscheinlich machen, da sich offenbar in den Seris eine unendliche Menge von verschiedenen und daher auch von hämagglutinierenden Substanzen vereinigen kann — sie haben dann mehr oder weniger Eigenschaft und Bedeutung von Antikörpern —, während eine Vielheit von Hämagglutininen schlecht zu der relativen Einfachheit der Bakterienzelle passen würde.

Zusammenfassung.

Ueberblicke ich kurz die Resultate meiner Untersuchungen, so glaube ich folgendes gezeigt zu haben:

- 1) Viele Coli-Stämme haben die Eigenschaft, die roten Blutkörperchen verschiedener Tierspecies zu agglutinieren.
- 2) Die Hämagglutination ist in gleichem Grade intensiv bei den roten Blutkörperchen verschiedener Individuen derselben Species.
- 3) Bakterielle Hämagglutinine lassen sich nicht als Produkte der Sekretion, Exkretion oder der Lösung der Bakterien selbst in den Nährböden und den Emulsionen in wässriger Salzlösung nachweisen, sondern die Hämagglutination tritt als eine besondere Reaktion auf, die Körper an Körper zwischen Bakterien und roten Blutkörperchen stattfindet.
- 4) Die mit Formalin getöteten Bakterien behalten ihre hämagglutinierende Fähigkeit ungeschmälert bei; demnach kann dieselbe nicht als eine vitale Funktion des Bakteriums selbst angesehen werden.
- 5) Die (saure — neutrale — alkalische) Reaktion des Vehikels, in das die Bakterien gebracht sind, hat keinen nennenswerten Einfluß auf das Auftreten und die Intensität der Hämagglutination.
- 6) Die Intensität der Agglutination variiert dagegen je nach der Natur und Zusammensetzung des Vehikels.
- 7) Die hämagglutinierende Eigenschaft der Bakterien ist wahrscheinlich für alle roten Blutkörperchen ein und dieselbe, wodurch eine Spezifität der bakteriellen Hämagglutinine ausgeschlossen wird.

Bologna, April 1908.

Nachdruck verboten.

Neue differentialdiagnostische Färbemethode für Tuberkel-, Perlsucht und andere säurefeste Bacillen, nebst Strukturstudien bei verschiedenen säurefesten Bakterienarten.

[Aus dem Laboratorium Dr. Carl Spengler in Davos.]

Von **L. v. Betegh** in Fiume.

Bekanntermaßen war Th. Smith (1) der erste, der auf die Verschiedenheiten der Tuberkel- und Perlsuchtbacillen hingewiesen hat. Nach ihm äußerte sich Koch (2) in seinem Vortrage am Londoner Kongresse des Jahres 1901 dahin, daß die Tuberkelbacillen des Menschen und die Perlsuchtbacillen des Rindes von Grund aus verschieden seien. Diese Behauptung Kochs empfing die Aerztewelt mit großer Skepsis, ja sogar während des Kongresses wurde gegen die erwähnte Äußerung stark debattiert. Auf der ganzen Strecke wurden nun seit der Zeit massenhafte Versuche gemacht, um die Frage zu lösen; es wurden Kommissionen ernannt, um die Frage vom wissenschaftlichen Standpunkte zu erleuchten. Auf diesem Wege entstand die Gruppe der Unitarier und die der Dualisten.

Zweck dieser Arbeit ist, auf die strukturellen Unterschiede der Tuberkel- und Perlsuchtbacillen, ferner auf diejenige anderer säurefester Bakterien hinzuweisen.

Von den unabstreitbaren Unterschieden der Tuberkel- und Perlsuchtbacillen kann man sich am leichtesten durch die C. Spenglerschen (3) Färbemethoden überzeugen. Von diesen Methoden muß die Pikrinmethode als diejenige betrachtet werden, welche von allen bis jetzt bekannten Färbeverfahren die sicherste und zuverlässigste ist. Mit dieser Methode kann man ganz genau die Quantität und Qualität der säurefesten Bacillen im Sputum u. s. w. feststellen. Sie ist aber weniger geeignet, die Strukturverhältnisse der säurefesten Bakterien darzustellen.

R. Koch war der erste, der die nicht gefärbten Teilchen in den Tuberkelbacillen als Sporen ansprach. Beinahe alle Forscher behaupten aber, daß weder die Tuberkel- noch die Perlsuchtbacillen Sporen haben. De facto kann man mit keiner der bekannten Färbemethoden — ausgenommen mit C. Spenglers Pikrin- und Hüllmethode — die Sporen der säurefesten Bakterien, resp. Tuberkel- und Perlsuchtbacillen darstellen.

In einer früheren Arbeit (4) habe ich auf die strukturellen Verhältnisse und Unterschiede bei Tuberkel- und Perlsuchtbacillen hingewiesen und habe betont, daß beide bedeutende morphologische Unterschiede aufweisen, je nach der Herkunft und dem Alter derselben. Es bestehen z. B. bedeutende morphologische Unterschiede bei Tuberkelbacillen, welche aus einem nekrotischen Herde stammen, und solchen, welche auf Glycerin-Agar-Bouillon gezüchtet, und solchen, welche aus dem Sputum kavernöser Phthise stammen oder als Kartoffelreinkultur gewachsen sind. Dasselbe gilt auch für Perlsuchtbacillen. Nach meiner Erfahrung eignen sich am besten für strukturmorphologische Studien diejenigen Tuberkel- und Perlsuchtbacillen, welche auf Glycerinserum, Glycerin-Bouillon-Agar gezüchtet wurden, oder diejenigen aus dem Sputum permanent hochfiebernder tuberkulöser Individuen. In diesen Fällen bekommt man die reinsten Formen, welche die morphologischen und strukturellen Verhält-

nisse am deutlichsten aufweisen. Ich habe darauf hingewiesen, daß man mit dem von mir „Tolin“-Methode genannten Färbeverfahren die von C. Spengler beschriebenen Splitter in kaseös-nekrotischen Herden, im jüngsten Tuberkel im Gewebe genau nachweist, auch in solchen Fällen, wo man mit den anderen bekannten Methoden weder Tuberkel- noch Perlsuchtbacillen sichtbar machen kann. Die Muchschen (5) Untersuchungen mit der von ihm modifizierten Gramschen Methode sind eine Bestätigung der C. Spenglerschen Splitternachweise. In dieser Arbeit machen aber Much und v. Behring keine Andeutung darüber, ob ihnen der Nachweis der Splitter auch bei Tuberkelbacillen und ferner, ob die Färbung der erwähnten Gebilde im Bacillenleibe selbst gelungen sei.

Ich glaube, es ist hier die richtige Stelle, die Frage der Splitter (= Granula) näher zu besprechen.

R. Koch nennt die ungefärbten Gebilde Sporen; ferner sagt er, daß die Tuberkelbacillen „sowohl in der künstlichen Kultur wie im Tierkörper Sporen bilden“. Nocard (6) und Hutyrá (7) beschreibt dieselben auch als Sporen, und zwar sehr genau. Andere Forscher dagegen, wie Kitasato, halten die erwähnten Gebilde für abgestorbene Teile des Bakterienleibes. Günther (8) sagt, „die Frage, ob Sporenbildung bei dem Tuberkelbacillus besteht, würde erst dann definitiv in positivem Sinne entschieden werden können, wenn es gelänge, an den fraglichen Gebilden eine Auskeimung zu beobachten“. Preisz (9) hält sie auch nicht für Sporen. C. Spengler ist der Ansicht, daß die Splitter der Tuberkelbacillen keine echten Sporen sind; er nennt sie sporoiden Körper. Die Perlsuchtbacillensplitter sind nach ihm dagegen echte Sporen. Sonderbarerweise sprechen die Forscher nur von den Tuberkelbacillensporen, nirgends wird betont, außer bei C. Spengler, daß die Perlsuchtbacillen exquisite Sporen und eine durchaus verschiedene Struktur besitzen von derjenigen der Tuberkelbacillen.

Daß die Meinungen der hervorragendsten Forscher über die morphologischen Verhältnisse und Artverschiedenheit der Tuberkel- und Perlsuchtbacillen in so auffallender, ja mitunter in scharf kontradiktorischer Weise auseinandergehen, ist meines Erachtens dem Umstande zuzuschreiben, daß zufolge der unvollkommenen Färbetechnik nicht alle Strukturteile der Tuberkel- und Perlsuchtbacillen sichtbar gemacht werden können. Günther (8) sagt ja auch, daß die früher als Sporen der Tuberkelbacillen benannten Dinge zu färben bisher auf keine Weise gelungen sei. Natürlich werden die Perlsuchtbacillen, wie gewöhnlich, wieder nicht genannt. Zur Frage der Sporen will ich einstweilen bemerken, daß sie C. Spengler als erster mit der Pikrinmethode gefärbt hat, und es gelang ihm auch, kulturell die Auskeimung der Perlsuchtbacillensplitter festzustellen, und von diesem Moment an nannte er sie auch Sporen, vorher Splitter. Die von C. Spengler als Splitter angesprochenen Gebilde sind mit den von mir mit Tolinfärbung gefärbten Perlsuchtbacillensporen und mit den von Much mit seiner modifizierten Gram-Methode nachgewiesenen Granulis vollkommen identisch.

Vor einigen Monaten veröffentlichte ich (10) ein neues Färbeverfahren, die „b.-Tolin“-Methode, mit welcher man die Tuberkel- und Perlsuchtbacillen differentialdiagnostisch färben kann. Bei diesem Färbeverfahren färbt sich die Wachshülle des Bacillus rot, die Sporen schwarzblau. Die weiteren Untersuchungen haben festgestellt, daß dieses Verfahren eine ganz zuverlässige Methode ist, mit welcher man die Tuberkel- und Perlsuchtbacillen genau unterscheiden kann sowohl im Sputum wie in symbiotischen Kulturen.

Die Methode ist die folgende:

- 1) dünner Aufstrich von Reinkultur,
- 2) lufttrockenes Fixieren über der Flamme,
- 3) Beizung mit 2—3 Tropfen 15-proz. Salpetersäurelösung und Erhitzen über der Flamme, bis außerhalb derselben feine Dämpfe emporsteigen,
- 4) Abspülen mit Wasser,
- 5) großer Tropfen Methylenblau nach Löffler (oder Methylenviolett nach Löfflers Methode blau hergestellt) mit 2—3 Tropfen Karbolfuchsin, oder beide Farben ää; dann wieder Erhitzen über der Flamme, bis leichte Dämpfe emporsteigen,
- 6) gründliches Abwaschen und Entfärben mit 60-proz. Alkohol, bis keine Farbe mehr abgeht,
- 7) Abwaschen mit Wasser,
- 8) Trocknen Kanada.

Für Tuberkel- und Perlsuchtbacillen, ferner Vogeltuberkulose und Leprabacillen im Sputum eignet sich folgende Nachfärbung besser:

Nach 7) nach Abwaschen mit Wasser läßt man 8) auf dem Deckgläschen eine dicke Schicht Wasser und tropft darauf einen Tropfen Malachitgrünlösung, nach C. Spenglers Phagocytenfärbung (in derselben Weise hergestellt, wie Löfflers Methylenblau). Das Einwirken der Farbe soll möglichst kurz, höchstens einige Sekunden dauern; dann sofort Abspülen mit Wasser,

9) Trocknen Kanada etc.

Die säurefesten Bakterien, resp. Tuberkel- und Perlsuchtbacillen sind rot, die Sporen blau bis blauschwarz; die Leukocytenkerne blauviolett, mitunter grünlichblau je nach der Dauer der Malachitgrünlösungseinwirkung. Zellplasma und Sekundärbakterien hellgrün.

Die b-Tolinfärbung gibt die genaueste Strukturdarstellung nicht nur bei Tuberkel- und Perlsuchtbacillen, sondern, wie wir unten sehen werden, auch bei den anderen säurefesten Bakterien, so daß man imstande ist, auch in künstlichen Gemischen jede säurefeste Bakterienart auf Grund ihrer typischen Struktur mit Sicherheit zu erkennen.

a) Tuberkelbacillen.

Für strukturmorphologische Studien eignet sich außer Reinkultur von Perlsuchtbacillen auch die Reinkultur von Tuberkelbacillen. Für die Untersuchung sind die 3—4 Wochen alten Kolonien am geeignetsten. Ausgetrocknete oder alte Kulturen geben kein günstiges Untersuchungs- und Studienmaterial.

Als kleinste vegetative Form sind die kugelrunden oder ovalen Gebilde, C. Spenglers sporoiden Körper, zu betrachten. Solche findet man in Reinkulturen massenhaft. Mit Karbolfuchsin färben sie sich nur dann, wenn sie außerhalb des Bakterienleibes liegen, oder wenn sich die Fethülle ganz aufgelöst hat. Aus den sporoiden Körpern wachsen kleine, sehr dünne, zarte, meistens gerade Stäbchen aus, die sich bei der Säurebehandlung wieder entfärben. Sie sind anfangs nicht säurefest oder nur partiell. Marmorek hat auch dasselbe gefunden. Erst nach einer bestimmten Entwicklung werden sie säurefest. Dann sind sie aber meistens etwas gebogen, mitunter an beiden Enden auch zugespitzt. Die säurefesten, reifen Bacillen sind beinahe immer etwas gekrümmt, sehr selten ganz gerade stäbchenförmig. Bei diesen Gebilden färbt sich

die Wachshülle intensiv rot; die Stäbchen erscheinen homogen. Erst bei dem weiteren Reifen der Bakterien ist im Protoplasma eine Segmentation zu beobachten. Es entstehen kleine Lücken, in welchen ovale, mitunter kugelförmige, lichtbrechende Gebilde, Sporen sitzen. Färbt man die Bacillen mit der b-Tolinfärbung, dann kann dieser Entwicklungsgang viel genauer verfolgt werden. Die Sporen färben sich tiefblau bis schwarzblau, die Hülle des Bacillus rosarot bis dunkelrot, je nach dem Alter und Entwicklungsstadium desselben. Das Plasma ist homogen. Der Bacillus ist in der Mitte manchmal dicker und dabei etwas gebogen. Seltener trifft man mehrere Sporen in einem Bacillus. Ich konnte nie mehr als 4 solche Gebilde beobachten. Ist der Bacillus ganz reif, dann färbt sich die Wachshülle nicht mehr. Die Sporen sind aber in der farblosen Hülle als sehr scharf konturierte, blau bis schwarzblaue Gebilde zu sehen.

Die mit der b-Tolinfärbung geschilderte Struktur ist für die Tuberkelbacillen sehr charakteristisch. Der von verschiedenen Forschern beobachtete Pleomorphismus ist eine fehlerhafte Interpretation einer richtigen Beobachtung und bezieht sich auf Kulturen mit symbiotischer Infektion. Ferner konnte ich eine Zweigbildung oder kolbenartige Verdickung bei Tuberkelbacillen nie nachweisen. Aber wiederholt traf ich in Sputumkulturen vom Menschen Kolbenbildungen und sogenannte Pleomorphie. Wahrscheinlich handelt es sich um eine symbiotische Kultur von Tuberkelbacillen und Vogeltuberkulose. Wenn in einem Bacillus 2—3—4 Sporen sind, dann sitzen sie in gleicher Entfernung voneinander. Der Zwischenraum ist gleichgroß und gleich dem Durchmesser der Sporen.

Im Sputum sind die Sporen mit der b-Tolinfärbung sicher nachzuweisen und die Strukturverhältnisse sind ganz identisch mit den bei Reinkulturen beschriebenen. Der Nachweis der Tuberkelbacillen ist, wie schon erwähnt, unter allen Umständen am sichersten mit der C. Spenglerschen Pikrinmethode. Sie sind als feine, mehr oder weniger gekrümmte Stäbchen zu sehen, welche mitunter in kleinen Häufchen liegen. Ich muß aber dieses **am sichersten** betonen, weil mit allen anderen Methoden der Nachweis unsicher ist, wenn die Hülle lädiert ist.

b) Perlsuchtbacillen.

Für die Strukturdarstellung der Perlsuchtbacillen eignen sich besonders solche Reinkulturen, welche auf Glycerin-Bouillon-Agar gezüchtet wurden; auf Glycerinserum gewachsene eignen sich mitunter auch; weniger auf Kartoffeln oder auf anderen Nährböden gewachsene; ferner die Perlsuchtbacillen des Sputums permanent hochfiebernder Individuen. Hier sind gewöhnlich die größten und charakteristischsten Formen zu Gesicht zu bekommen. Färbt man die aus Reinkultur stammenden Bakterien mit gewöhnlichem Karbolfuchsin und entzieht die überflüssige Farbe mit 60-proz. Alkohol, dann sieht man die Perlsuchtbacillensporen als kugelrunde, intensiv gefärbte Gebilde. Daneben erscheinen schwach tingierte, feine, dünne Stäbchen, welche ganz gerade sind, mitunter schwach gebogen, aber ohne irgend eine Struktur. Das sind die kaum säurefesten jungen Perlsuchtbacillen. In vorgeschrittenem Entwicklungsstadium ist die Hülle intensiv rot koloriert, hier und da treten einzelne Parteen im Bacillenleibe, die den Farbstoff intensiver aufgenommen haben, schärfer hervor, so daß der Bacillus eine schwache Segmentation zeigt. Manche Stäbchen enthalten eine oder mehrere Sporen. Die vollkommen gereiften Bacillen zeigen eine deutliche Segmentation und Sporulation.

Die Methode ist die folgende:

- 1) dünner Aufstrich von Reinkultur,
- 2) lufttrockenes Fixieren über der Flamme,
- 3) Beizung mit 2—3 Tropfen 15-proz. Salpetersäurelösung und Erhitzen über der Flamme, bis außerhalb derselben feine Dämpfe emporsteigen,
- 4) Abspülen mit Wasser,
- 5) großer Tropfen Methylenblau nach Löffler (oder Methylenviolett nach Löfflers Methode blau hergestellt) mit 2—3 Tropfen Karbolfuchsin, oder beide Farben ää; dann wieder Erhitzen über der Flamme, bis leichte Dämpfe emporsteigen,
- 6) gründliches Abwaschen und Entfärben mit 60-proz. Alkohol, bis keine Farbe mehr abgeht,
- 7) Abwaschen mit Wasser,
- 8) Trocknen Kanada.

Für Tuberkel- und Perlsuchtbacillen, ferner Vogeltuberkulose und Leprabacillen im Sputum eignet sich folgende Nachfärbung besser:

Nach 7) nach Abwaschen mit Wasser läßt man 8) auf dem Deckgläschen eine dicke Schicht Wasser und tropft darauf einen Tropfen Malachitgrünlösung, nach C. Spenglers Phagocytenfärbung (in derselben Weise hergestellt, wie Löfflers Methylenblau). Das Einwirken der Farbe soll möglichst kurz, höchstens einige Sekunden dauern; dann sofort Abspülen mit Wasser,

9) Trocknen Kanada etc.

Die säurefesten Bakterien, resp. Tuberkel- und Perlsuchtbacillen sind rot, die Sporen blau bis blauschwarz; die Leukocytenkerne blauviolett, mitunter grünlichblau je nach der Dauer der Malachitgrünlösungseinwirkung. Zellplasma und Sekundärbakterien hellgrün.

Die b-Tolinfärbung gibt die genaueste Strukturdarstellung nicht nur bei Tuberkel- und Perlsuchtbacillen, sondern, wie wir unten sehen werden, auch bei den anderen säurefesten Bakterien, so daß man imstande ist, auch in künstlichen Gemischen jede säurefeste Bakterienart auf Grund ihrer typischen Struktur mit Sicherheit zu erkennen.

a) Tuberkelbacillen.

Für strukturmorphologische Studien eignet sich außer von Perlsuchtbacillen auch die Reinkultur von Tuberkelbacillen. Die Untersuchung sind die 3—4 Wochen alten Kolonien auf Ausgetrocknete oder alte Kulturen geben kein günstiges Studienmaterial.

Als kleinste vegetative Form sind die kugelrunden Sporidien zu betrachten. C. Spenglers sporoiden Körper, zu betrachten in Reinkulturen massenhaft. Karbolfuchsin färbt sie, wenn sie außerhalb des Zellkörpers liegen, ohne die Hülle ganz aufgelöst zu haben. Die Hülle ist sehr dünne, zarte, membranartige Stäbchen. Behandlung wiederholend. Sie sind meist nur partiell. Man hat auch bestimmte Formen. Die säurefesten sind meistens rot. Die säurefesten sind sehr selten.

man findet auch kolben-
förmig gut erhalten.
Die kolbenartig verdickten
Bacillen sind meist gefärbt. In dem
Sputum, kugelförmige Sporen
können größer sein können,
aber trifft man nur eine
diese verdickten, kolben-
förmigen bei Perlsuchtbacillen
vom Menschen kolben-
förmigen sind, dann handelt
es sich um Perlsuchtbacillen. Der Unter-
schied genau festzustellen, ob
es sich um verdickten Stäbchen bei
den Verdickungen 2—3mal
können bei Lepra beinahe
nicht. Außerdem sind die
sie führen, wie wir unten
den Perlsuchtbacillen, jedoch
deutend kleiner.

mit der b-Tolinfärbung,
mit Sicherheit festzustellen, ob
Infektion von Tuberkel-
oder Perlsuchtbacillen. Ein
Gemisch der genannten Bakte-
rien nicht andere pathogene, säurefeste
Bacillen, Lepra oder Vogeltuberkulose. Auch
das charakteristische Gepräge. Bezüglich der
Färbung ist gelungen, festzustellen, daß beim
Vogeltuberkuloseinfektion vorhanden
Färbung ist es mir ferner gelungen,
säurefesten Bacillen im Sputum schwer-
er nachzuweisen. Es sind sehr lange
Bacillen sehr nahe stehen. Sie sind etwas
abgerundeten Enden. Die Hälfte derselben
tragen sie 10—12—14 Sporen tragen, welche
Perlsuchtbacillen und ziemlich dicht neben-
einander korallenähnliches Aussehen haben. Ich habe
daß diese Erkrankungsfälle, wo die beschriebe-
nachweisbar sind, sehr ungünstige Fälle sind,
febern. Mitunter sind sie ziemlich zahlreich,
fallen sie einem sofort auf als lange, zierliche
nicht festzustellen gewesen, ob das nicht etwa
Perlsuchtbacillen sind, oder unter allen Umständen ein
Ich traf sie einige Male auch in Reinkulturen von

Sputumanalysen auf Tuberkel- und Perlsuchtbacillen
tuberkulöse Erwähnung getan werden. Kürthi (12) be-
von C. Spengler entdeckte Methode, und erwähnt,
dieser Methode genauen Aufschluß haben kann darüber,
chemotropische und phagocytische Wirkung ausüben.
der b-Tolinfärbung die Malachitgrünnachfärbung ent-

Die charakteristischsten Bacillenformen, die man mit der b-Tolinfärbung zu Gesicht bekommen kann, sind die sporentragenden Bacillen, die in blaßroter Hülle die schwarzblauen Sporen eingeschlossen sehen lassen. Diese Struktur ist für die Perlsuchtbacillen sehr charakteristisch, und es ist unmöglich, sie mit irgend einer säurefesten Art zu verwechseln. Wie wir unten sehen werden, stehen die Smegmabacillen den Perlsuchtbacillen sehr nahe. Trotzdem sind aber diese zwei Arten merklich verschieden. Die Perlsuchtbacillen sind in der Regel dicker und länger. Die Sporen sind größer als diejenigen der Smegmabacillen.

Was nun das typische Strukturbild der Perlsuchtbacillen anbelangt, so hat darauf C. Spengler als erster hingewiesen. Er sagt darüber: „In dieser Weise gefärbt (Hüllenmethode), erscheinen die Perlsuchtbacillen in geradezu riesenhafter Größe, weit größer als Tuberkelbacillen. Eine Verwechselung ist selbst in Gemischen beider Bakterien ganz unmöglich. Es handelt sich um zwei unzweifelhaft völlig verschiedene Arten, was übrigens auch biologisch und toxikologisch einwandfrei erwiesen werden kann.“

Im Sputum ist die oben erwähnte Struktur der Perlsuchtbacillen ganz genau nachweisbar. Es müssen aber dazu immer dünne Aufstriche gemacht werden.

c) Vogeltuberkulosebacillen.

R. Koch hat als erster darauf hingewiesen, daß die Tuberkuloseerreger der Vögel mit den Säugetiertuberkulosebacillen identisch sind; jedoch änderte er nachträglich diese Ansicht, und hielt sie später für „eine für sich bestehende, aber der Säugetiertuberkulose sehr nahestehende Art“ (cit. nach L. Rabinowitsch). Dieser Meinung schließen sich mehrere Forscher an, ohne sie aber näher zu begründen. Ausführlich ist die Arbeit L. Rabinowitschs (10); jedoch sie ist der Ansicht, daß „die Vogeltuberkulosebacillen und die Erreger der Säugetiertuberkulose nicht als getrennte Arten, sondern nur als verschiedenen Tierspecies angepaßte Varietäten einer Art aufzufassen sind. Ich lasse nun meine eigenen, an Reinkulturen beobachteten Tatsachen folgen:

In mit Karbolfuchsin gefärbten Präparaten findet man dünne, lange Stäbchen, welche sich mehr oder weniger gleichmäßig färben. Die Bacillen sind meistens ganz gerade, sehr selten etwas gebogen, nie zugespitzt. In reifen Bacillen sind ungefärbte, kleine, kugelförmige, lichtbrechende Teile zu sehen, welche mit der b-Tolinfärbung sich färben und die Sporen sind. Die Bacillen sind etwas dünner als die Tuberkelbacillen und dabei länger. Man trifft immer kolbenartig verdickte Stäbchen, die 3—4mal länger sein können als die gewöhnlichen Stäbchen. Die verdickten Kolben sind immer mehr oder weniger gebogen, und mitunter sind an beiden Enden der Stäbchen Kolben. Diese verdickten Teile nehmen den Farbstoff etwas intensiver auf. An denselben konnte nie eine deutliche Segmentation beobachtet werden.

Mit der b-Tolinfärbung haben wir ein anderes Strukturbild vor den Augen. Die langen, geraden Stäbchen tragen gewöhnlich je eine kugelförmige oder ovoide, tiefblau bis schwarzblau gefärbte Spore. Selten sind zwei oder mehrere vorhanden. Sie sitzen meistens in der Mitte des Bacillus, aber nie am Ende. Man kann genau den ganzen Gang der Entwicklung von der Spore bis zum Bacillus kulturell verfolgen. In alten Kulturen sind die Bacillenleiber zugrunde gegangen, und mit der b-Tolinfärbung trifft man nur Sporen. Die Wachshülle der Bakterien

ist nur hier und da in Spuren nachweisbar. Man findet auch kolbenartige Stäbchen, die ihre Struktur auch hier ziemlich gut behalten.

Die interessanteste Struktur haben die langen, kolbenartig verdickten Stäbchen. Die Wachshülle ist intensiv dunkelviolettfärbt. In dem verdickten Teile sind 1—2—3 scharfkantige, tiefblaue, kugelförmige Sporen sichtbar, die noch einmal so groß oder auch noch größer sein können, als die Sporen in den geraden Stäbchen. Mitunter trifft man nur eine Spore, welche am Ende der Verdickung sitzt. Diese verdickten, kolbenartigen Stäbchen sind weder bei Tuberkel- noch bei Perlsuchtbacillen zu sehen. Trifft man in sogenannten Reinkulturen vom Menschen kolbenartig verdickte, säurefeste Stäbchen, wie sie beschrieben sind, dann handelt es sich entweder um Vogeltuberkulose oder um Leprabacillen. Der Unterschied zwischen Lepra und Vogeltuberkulose ist genau festzustellen, obgleich gewisse Ähnlichkeiten nicht fehlen. Die verdickten Stäbchen bei Lepra sind kürzer und dabei die kolbenartigen Verdickungen 2—3mal dicker, als bei Vogeltuberkulose. Die Sporen können bei Lepra beinahe Kokkengröße erreichen; bei Vogeltuberkulose nicht. Außerdem sind die normalen Stäbchen bei Lepra dicker und sie führen, wie wir unten sehen werden, 1—2—3—4 Sporen, gleich den Perlsuchtbacillen, jedoch sind die Sporen in den Normalstäbchen bedeutend kleiner.

Man ist nun imstande, im Sputum etc. mit der b-Tolinfärbung, auf Grund der Struktur der Bacillen mit Sicherheit festzustellen, ob im gegebenen Falle eine prävalierende Infektion von Tuberkel- oder Perlsuchtbacillen, oder ein symbiotisches Gemisch der genannten Bakterienarten vorhanden ist; ferner ob auch nicht andere pathogene, säurefeste Bacillen enthalten sind, wie z. B. Lepra oder Vogeltuberkulose. Auch diese haben ein ganz eigenes charakteristisches Gepräge. Bezüglich der Vogeltuberkulose ist es mir wiederholt gelungen, festzustellen, daß beim Menschen, wenn auch selten, eine Vogeltuberkuloseinfektion vorhanden sein kann. Mit der b-Tolinfärbung ist es mir ferner gelungen, einen ganz originellen Typus der säurefesten Bacillen im Sputum schwerkranker und hochfiebernder Phthisiker nachzuweisen. Es sind sehr lange Bacillen, die den Perlsuchtbacillen sehr nahe stehen. Sie sind etwas dünner, als die Perlsuchtbacillen, aber mitunter um die Hälfte derselben länger, mit abgestumpften oder abgerundeten Enden. Das Charakteristische für diesen Typus ist das, daß sie 10—12—14 Sporen tragen, welche kleiner sind als die der Perlsuchtbacillen und ziemlich dicht nebeneinander sitzen, so daß sie korallenähnliches Aussehen haben. Ich habe die Beobachtung gemacht, daß diese Erkrankungsfälle, wo die beschriebenen Bakterien im Sputum nachweisbar sind, sehr ungünstige Fälle sind, und meistens über 39° C fiebern. Mitunter sind sie ziemlich zahlreich, und bei der Pikrinfärbung fallen sie einem sofort auf als lange, zierliche Stäbchen. Es ist noch nicht festzustellen gewesen, ob das nicht etwa die modifizierten Perlsuchtbacillen sind, oder unter allen Umständen ein ganz neuer Typus. Ich traf sie einige Male auch in Reinkulturen von Perlsuchtbacillen.

Es soll der Sputumanalysen auf Tuberkel- und Perlsuchtbacillen und der Phagocytose Erwähnung getan werden. Kürthi (12) beschrieb genau die von C. Spengler entdeckte Methode, und erwähnt, daß man mit dieser Methode genauen Aufschluß haben kann darüber, ob die Heilstoffe chemotropische und phagocytische Wirkung ausüben. Wenn man bei der b-Tolinfärbung die Malachitgrünachfärbung ent-

sprechend genau macht, kann die von C. Spengler beschriebene Phagocytose auch verfolgt werden.

Wenn ich nun meine Erhebungen kurz resumiere, kann ich auf Grund der erwähnten Strukturstudien folgendes feststellen:

1) Die Tuberkelbacillen des Menschen sind eine selbständige Art, welche unter allen Umständen sich strukturell von anderen Arten säurefester Bacillen unterscheidet.

2) Die Perlsuchtbacillen sind ebenfalls eine selbständige Art und nicht bloß ein Typus. Diese selbständigen Eigenschaften sind ebenfalls morphologisch (R. Koch, Schütz, C. Spengler, Th. Smith, Löffler), toxiologisch (Bonome, C. Spengler) und strukturell unzweifelhaft nachweisbar.

3) Tuberkel- und Perlsuchtbacillen rufen meist als Symbionten beim Menschen Tuberkulose hervor; dabei behält jede Art seine eigenen, originellen Eigenschaften. Eine Mutation ist nie beobachtet worden.

4) Eine Reininfektion nur mit Tuberkelbacillen oder nur mit Perlsuchtbacillen ist äußerst selten.

5) Die Untersuchungen von Th. Smith, R. Koch, C. Spengler, Schütz, Löffler, Bonome, v. Betegh, daß Tuberkel- und Perlsuchtbacillen artverschieden sind, werden auch durch die Strukturstudien überzeugend bewiesen.

6) Die Vogeltuberkulosebacillen sind eine selbständige Art, welche nichts anderes gemein mit der Säugetiertuberkulose haben, als die Säurefestigkeit; das kann biologisch, morphologisch und strukturell nachgewiesen werden.

7) Tuberkel-, Perlsucht- und Vogeltuberkulosebacillen haben Sporen, welche mit der b-Tolinfärbung nachweisbar sind; R. Kochs, Nocard's, C. Spenglers diesbezügliche Untersuchungen werden mit der b-Tolinfärbung bestätigt.

Löffler (14) äußerte sich auf dem VIII. Internationalen tierärztlichen Kongresse folgendermaßen: „Die Typen sind nicht künstliche, sondern sie sind der Ausdruck artlich vorhandener Verschiedenheiten der Bacillen, die durch die dauernde Fortzüchtung im Menschen, im Rinde und im Vogelkörper bedingt worden sind. Die Tuberkulose pflanzt sich nämlich nur in 3 Species fort, im Menschen, im Rinde und in den Vögeln. Die Tuberkulosen aller übrigen Tiere werden durch gelegentliche Uebertragung von einem dieser Stämme, am häufigsten wohl von dem Rinderstamme, bedingt. Phylogenetisch gehen diese 3 Stämme, je länger sie in den Species, im Menschen, im Rinde fortgezüchtet werden, immer weiter auseinander. Sie passen sich immer mehr dem Menschen-, dem Rind- und dem Vogelkörper an, und gewinnen spezifische Virulenz für den Menschen, bezw. für das Rind, bezw. für den Vogel. Sie nähern sich also nicht, sondern sie entfernen sich voneinander.“

Dieser Ausspruch Löfflers bezüglich der Tuberkel-, Perlsucht- und Vogeltuberkulosebacillen wird durch die schon erwähnten Strukturunterschiede auf das überzeugendste bestätigt. Was nun die Tuberkuloseerreger

anderer Tiere, speziell der Kaltblüter, anbelangt, so sind dies meines Erachtens ebenfalls artverschiedene, säurefeste Bakterien. Sie haben aber mit dem Warmblütertuberkuloseerreger nichts gemein, als die Säurefestigkeit.

Strukturstudien bei anderen säurefesten Bakterien.

a) Smegmabacillen.

Zu den Strukturstudien sind Reinkulturen von Smegmabacillen verwendet worden. Die Bacillen wurden auf Glycerinserum gezüchtet. Mit der Karbolfuchsinlösung sind am ehesten in der 3—4-tägigen Kultur ziemlich lange, gerade oder sehr wenig gebogene Stäbchen, welche den Farbstoff intensiv aufnehmen, sichtbar. In einzelnen Stäbchen ist die Hülle ganz homogen gefärbt. Das sind die säurefesten, jungen Bacillen, die keine Sporen führen. Ganz junge Stäbchen sind oft nicht oder nur partiell säurefest. In sporenreifen Bacillen sieht man das Plasma in Segmente geteilt, und solche Stäbchen haben eine gewisse Aehnlichkeit mit den Perlsuchtbacillen. Auch die ganz homogen gefärbten Bakterien sind morphologisch ähnlich; es sind jedoch deutliche Unterschiede vorhanden. Die Smegmabacillen sind kürzer und etwas dünner, als die Perlsuchtbacillen und an beiden Enden abgerundet. Die Unterschiede treten am deutlichsten hervor, wenn die Bakterien mit der b-Tolinfärbung gefärbt sind. In allen sporenreifen Bacillen sind kugelförmige, scharfkantige, tiefblau bis schwarzblau gefärbte Sporen in blauroter Hülle, welche sich von gleicher Größe und gleicher Entfernung voneinander verfolgen. Die Sporen sind kleiner, als diejenigen der Perlsuchtbacillen, aber größer als diejenigen der Tuberkelbacillen. In den meisten Bacillen sind die Sporen endständig, was bei anderen säurefesten Bakterien nicht der Fall ist. In jüngeren Stäbchen sieht man nur die angedeuteten Sporen. Die Wachshülle ist blaßrot oder blaßviolett. Diese Struktur ist derart charakteristisch für Smegmabacillen, daß eine Verwechslung mit anderen säurefesten unmöglich ist. Im gegebenen Falle kann man auf Grund der Struktur mit Sicherheit die Differentialdiagnose zwischen Smegma-, Perlsucht- und Tuberkelbacillen stellen.

b) Leprabacillus.

Unter den für Menschen pathogenen säurefesten Bakterien ist der Leprabacillus noch zu erwähnen. Nach Günther sind die Leprabacillen „etwas kürzer als die Tuberkelbacillen“. — Das ist nicht der Fall. Im Gegenteil, sie stehen, was Größe und Dicke anbelangt, zwischen Tuberkel- und Perlsuchtbacillen, sind größer und länger als Tuberkel- und kleiner und schmaler als Perlsuchtbacillen. — Ohne im weiteren die bis jetzt bekannten Beschreibungen zitieren zu wollen, will ich kurz meine eigenen Untersuchungen folgen lassen, welche sich auf Reinkulturen beziehen. Die Reinkulturen sind von C. Spengler gezüchtet und stammen von H. Kedrowski aus Moskau.

Mit Karbolfuchsin sind die verschiedensten Formen von säurefesten Stäbchen zu beobachten. Trotzdem kann man zwei Typen ganz genau unterscheiden, eine bacilläre Form, welche durch gerade, lange — länger als Tuberkelbacillen — abgestumpfte, oder schwach abgerundete Stäbchen charakterisiert ist, und eine keulen- oder kolbenartig verdickte Stäbchenform, welche sehr ähnlich ist denjenigen Typen, die bei Vogeltuberkulose beschrieben sind. Jedoch ist bei der Lepra dieser Typus bei weitem dicker. Diese morphologischen Unterschiede sind durch Strukturunterschiede noch näher präzisiert. Die Stäbchenformen haben ziemlich große Aehnlichkeit mit den Vogeltuberkulosebacillen. In ganz jungen Bakterien ist

die Wachshülle ganz homogen gefärbt. In sporenreifen Bakterien dagegen ist eine ganz deutliche Segmentation vorhanden, wo man zwischen intensiv gefärbten Plasmateilchen ovoide oder kugelförmige, lichtbrechende, ungefärbte Teilchen sieht. Das sind die Sporen. In manchen Stäbchen sind 2, 3, 4 bis 5 Sporen nachweisbar. Die keulenartigen Typen sind von ganz anderer Beschaffenheit. Sie sind viel intensiver gefärbt, zeigen nie eine deutliche Segmentation. Die Wachshülle ist am ganzen Bacillenleibe homogen gefärbt. Mitunter sind beide Enden des Bacillus verdickt.

Mit der b-Tolinfärbung gefärbt stellt sich die oben erwähnte Struktur weit vollendeter dar. Es fällt sofort auf, daß die Bacillen einen violetten Farbenton haben. Sie sind weniger säurefest, als die Tuberkel- und Perlsuchtbacillen. Das ist übrigens auch bei Vogeltuberkulosebacillen der Fall. Die Hülle des Stäbchens ist fein tingiert, und in den reifen Stäbchen sitzen 1—2—3—4 kugelförmige, kleine, tiefblau gefärbte Sporen, etwa von der Größe derjenigen der Tuberkelbacillen. Sie sind scharfkantig, und wenn in einem längeren Stäbchen mehrere vorhanden sind, dann sitzen diese in gleicher Entfernung voneinander. Meistens sind sie in der Mitte der Bacillen sichtbar. — Ganz charakteristisch ist das Bild der keulenförmigen Typen. Sehr oft ist der ganze Bacillus homogen gefärbt, ohne die kleinste Struktur aufzuweisen. Dann trifft man solche, bei denen ein tiefblau tingierter Ring am Übergange des Stäbchens in die Keule zu sehen ist, welches scharf absticht von der Grundfarbe. Am auffallendsten präsentieren sich die kugelförmigen, scharfkantigen, tiefblau gefärbten Sporen. In dem dünnen Teile des Stäbchens sind auch prägnante Sporen sichtbar, wie in den Kolben. Die Zahl dieser Sporen ist verschieden; es konnten aber nie mehr als drei nachgewiesen werden. Diejenigen, welche im verdickten Teile sitzen, sind sehr groß; die anderen im dünneren Teile bedeutend kleiner. Diese Struktur ist dem Leprabacillus ganz charakteristisch.

c) Fischttuberkulosebacillen.

Die untersuchten Bakterien der Fischttuberkulose stammen von Reinkulturen, welche auf Lungen-Glycerinagar gezüchtet worden sind. Mit der Karbolfuchsinfärbung findet man gerade, feine, säurefeste Stäbchen, welche etwas dünner und auch kürzer sind, als die Tuberkelbacillen. Sie sind weniger säurefest als Tuberkel- oder Perlsuchtbacillen. Eine Struktur ist nach Ziehl nicht nachweisbar. Die Wachshülle färbt sich homogen. Mit der b-Tolinfärbung werden die Stäbchen violettrot gefärbt und in den meisten Stäbchen sind 1—2 kleine, ovoide, tiefblaue, scharfkantige Sporen sichtbar. Die Stäbchen sind abgerundet. Auf Grund der morphologischen und speziell der Strukturverhältnisse sind die Fischttuberkulosebacillen von den anderen säurefesten Arten ganz genau zu unterscheiden. Sie repräsentieren die kleinsten kaltblüteriopathogenen, säurefesten Bakterien. Bei Warmblütern konnte ich sie nie nachweisen.

d) Moellers Grasbacillus II.

Moellers Grasbacillus II gehört zu den kleinsten säurefesten Bakterien. Die Strukturstudien wurden an auf Glycerinserum gezüchteten Reinkulturen gemacht. Mit Karbolfuchsinfärbung gefärbt, sind kurze, gerade Stäbchen sichtbar, die kaum die Hälfte der Tuberkelbacillenlänge erreichen. Die Wachshülle färbt sich homogen; sie weist keine Struktur auf. Die Stäbchen sind in der Mitte etwas verdickt. Mit der b-Tolinfärbung sieht man in blaßrot gefärbter Hülle schwarzviolett tingierte,

ovoide Sporen, welche meistens einzeln vorkommen. Sie liegen in der Mitte des Bacillus. Seltener sind 2 Sporen nachweisbar. Sie sind nicht endständig. Die in der Mitte des Bacillus beobachtete Verdickung sieht man bei dieser Färbung noch auffallender.

Nachtrag.

Die Frage der Artverschiedenheit der Tuberkel-, Perlsucht- und Vogel-tuberkulosebacillen, welche von Th. Smith, R. Koch, C. Spengler, Schütz, Löffler u. a. morphologisch, biologisch und toxikologisch nachgewiesen wurde, ist auch strukturell bestätigt. Die b-Tolinfärbung ist äußerst geeignet zur Darstellung der Sporen bei Tuberkel-, Perlsucht-, Vogel-, Fischtuberkulose-, Smegma-, Lepra- und Moellers Grassbacillus II. Die Frage der Struktur- und Sporenbildung bei den hier nicht angeführten säurefesten Bakterien wird nach Abschluß der diesbezüglichen Arbeiten veröffentlicht werden. — Es sei hier noch erwähnt, daß meine Beobachtungen von C. Spengler bestätigt werden.

Ich erfülle eine äußerst angenehme Pflicht, Herrn Dr. Carl Spengler für die gütige Ueberlassung des Materials und für die freundlichen Ratschläge auch hier meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Smith, Th., Two varieties of the tubercle bacillus from mammals. (U. S. Department of Agriculture. Bureau of animal Industry. 12th—13th Ann. 1895—1896. p. 149—161. Washington 1897.)
—, A comparative study of bovine tubercle bacilli and of human bacilli from sputum. (Journ. of exper. Med. Vol. III. No. 4/5. p. 451—511. New York. July and Sept. 1898.)
—, Studies in mammalian tubercle bacilli. III. Description of a bovine bacillus from the human body. A culture test for distinguishing the human from the bovine type of bacilli. (Journ. of med. Res. Vol. XIII. No. 3. p. 253—283. Boston 1905. Februar.)
- 2) Koch, R., Vortrag in der Physiologischen Gesellschaft zu Berlin am 24. März 1882. (Berl. klin. Wochenschr. 1882. No. 15.) Zitiert nach C. Günther.
— u. Schütz, W., Menschliche Tuberkulose und Rindertuberkulose. Bericht an den Minister der geistlichen, Unterrichts- und Medizinalangelegenheiten und den Minister für Landwirtschaft, Domänen und Forstwirtschaft vom 1. Juli 1901. (Arch. f. wissenschaft. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXVIII. No. 1—2. p. 169—196.)
- 3) Spengler, C., Neue Färbemethoden für Perlsucht- und Tuberkelbacillen und deren Differentialdiagnose. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 9.)
—, Artverschiedenheit der Tuberkel- und Perlsuchtbacillen; die symbiotische Doppel-ätiologie der menschlichen Tuberkulose und die Doppelvaccination. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907.)
—, Ein neues immunisierendes Heilverfahren etc. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. 1905. No. 31; No. 31.)
—, Die Doppelätiologie der tuberkulösen Phthise und die Vaccinationsbehandlung. (Wiener klin. Rundsch. 1906. No. 23.) Zitiert nach C. Spengler.
- 4) v. Betegh, L., Adatok az emberi és állati tuberkulosis bacillusok alaktanához; új festési eljárás; a tuberkulosis bacillusok sporáinak diagnostikai értékéről. (Állatorvosi Lapok. 1907. No. 35.)
- 5) v. Behring-Much, Beitrag zur Lehre von den Infektionswegen der Tuberkulose. (Tuberkulosis. Vol. VI. 1907. No. 8. p. 378—385.)
- 6) Nocard-Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux. Vol. II. p. 9.
- 7) Hutyra, F., Állatorvasi belgyógyászat. I. k. p. 438.
- 8) Günther, C., Einführung in das Studium der Bakteriologie. Leipzig 1906.
- 9) Preisz, H., Bakteriologie.
- 10) v. Betegh, L., A gümöbaccilusok új festési módja. (Állatorvosi Lapok. 1907. No. 37.)
- 11) Rabinowitsch, L., u. Koch, M., Die Tuberkulose der Vögel und ihre Beziehungen zur Säugetiertuberkulose. (Tuberkulosestudien. Berlin 1907. p. 246—541.)

- 12) Kürthi, A., Die Differentialfärbemethode der Tuberkuloseerreger. (Wiener klin. Wochenschr. XX. 1907. No. 49.)
- 13) Bonome, A., Präzipitinreaktion als diagnostisches Mittel der Tuberkulose und zur Differenzierung zwischen Menschen- und Rindertuberkulose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. No. 4.)
- 14) Löffler, VIII. Nemzetközi állatorvosi kongresszus. III. p. 227.

Nachdruck verboten.

Kartoffelnährbouillon zur Züchtung der Tuberkelbacillen.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium von Prof. N. Tschistowitsch
an der Militär-Medizinischen Akademie zu St. Petersburg.]

Von Privatdozent Dr. W. Jurewitsch.

Ein Mangel an guten Nährböden zur Züchtung der Tuberkelbazillen macht sich stets fühlbar, besonders wenn man große Mengen derselben zu züchten hat. Es ist ja außer Zweifel, daß der mangelhafte und langsame Wuchs der Tuberkelbacillen nicht nur von ihren besonderen Eigenschaften, sondern ebenso von der Unvollkommenheit der gebräuchlichen Nährmedien abhängt.

Unter diesen muß die Kartoffel mit Zusatz von Glycerinbouillon als eines der besten für Tuberkelbacillen angesehen werden; dies zeigt, daß die Kartoffel solche Stoffe enthält, die besonders den Wuchs der Tuberkelbacillen befördern. Aus diesem Grunde habe ich versucht, einen flüssigen Kartoffelextrakt Nährboden darzustellen. Unter allen von mir ausprobierten Kombinationen erwies sich am einfachsten die folgende Prozedur:

Ausgeschälte Kartoffeln werden in große Stücke geschnitten, mit Leitungswasser rasch abgespült und auf einem Reibeisen zerrieben; der so erhaltene Kartoffelbrei (samt dem Kartoffelsafte) wird gewogen und mit so viel Kubikzentimeter Leitungswasser vermischt, als der Brei Gramm wiegt, oder sogar mit der doppelten Quantität Wasser: z. B. zu 500 g Brei werden 500 ccm oder 1 l Wasser zugesetzt (dieser Unterschied hängt von der Art der Kartoffel ab; wenn die Kartoffel viel Saft enthält, dann muß man weniger Wasser zugeben; es ist am zweckmäßigsten, das erste Mal sich die beiden Konzentrationen parallel herzustellen, um sie mit einander zu vergleichen). Dieses Gemisch wird bis zum nächsten Tage kalt aufbewahrt, dann geschüttelt und durch Leinwand gut abgepreßt. Das so erhaltene Kartoffelinfus wird nach $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ -ständigem Stehen vom Bodensatz abgesehen. Gleichzeitig wird ein gewöhnliches Fleischinfus bereitet (500 g zerkhacktes Fleisch auf 1 l Wasser; nach ca. 24-stündigem Stehen durch Leinwand abgepreßt). Das Kartoffel- und das Fleischinfus werden zu gleichen Teilen vermischt und mit $\frac{1}{2}$ -proz. Chapoteau- oder Witte-Pepton und $\frac{1}{4}$ -proz. Kochsalz oder Monokaliumphosphat versetzt. Nun wird alles in einem Kessel bei gelindem Erwärmen unter stetem Umrühren bis zur vollen Lösung des Peptons gehalten, dann im Kochschen Dampfapparat 1 Stunde lang gekocht und durch einen Faltenfilter warm filtriert¹⁾.

1) Das Filtrieren geht zuweilen langsam vor sich, und das kann schon vorausgesehen werden: Ist das Medium durchsichtig, mit großen und kleinen Flocken, so filtriert es gut; ist es dagegen trüb, so hört es bald auf, das Filter zu passieren. In diesem Falle muß man es nochmals im Kochschen Apparat kochen, dann ruhig stehen lassen und nur die oberen Schichten auf den Filter abdekantieren. Um die Prozedur zu beschleunigen, lohnt es sich, die Filter zu wechseln.

Das Filtrat wird nun mit 3 Proz. Glycerin, dann mit gesättigter Sodalösung (*solutio natrii carbonici*) bis zu ausgesprochener alkalischer Reaktion versetzt (die nötige Quantität der Sodalösung hängt selbstverständlich von der Art der Kartoffel ab), im Autoklaven $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 118—120° gekocht und abgekühlt filtriert, dann in geeignete Gefäße verteilt und bei 115° $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang sterilisiert. Ist Kartoffelinfus in genügender Quantität vorhanden — 1 l oder mehr — so können die beiden Infuse — das Kartoffelinfus einerseits, das Fleischinfus mit 1 Proz. Pepton und $\frac{1}{2}$ Proz. Kochsalz anderseits — getrennt im Kochschen Apparate gekocht und dann filtriert werden; die Filtrate werden zu gleichen Teilen vermischt mit 3 Proz. Glycerin und Sodalösung versetzt usw.

Ist endlich fertige, gewöhnliche Fleischbouillon vorhanden, so mischt man dieselbe zu gleichen Teilen mit dem Kartoffelinfus, das Gemisch wird 1 Stunde lang im Kochschen Apparate gekocht, filtriert, mit 3 Proz. Glycerin versetzt und alkalisiert; dann weiter, wie oben angeführt.

Die in dieser Weise hergestellte Bouillon muß eine dunkelbraune Farbe haben; ist sie dunkelrot, dann ist die Reaktion zu kontrollieren, da diese Farbe ein Zeichen mangelhafter Askaleszenz sein kann. Eine endgültige Schwärzung tritt nur nach völliger Erkaltung ein.

Zur Impfung entnimmt man am zweckmäßigsten ein auf der Bouillonoberfläche einer Kartoffelkultur gediehenes Tuberkelhäutchen (die Reagensgläser mit Kartoffel müssen dazu mit genügender Menge Glycerinbouillon — vorzüglich nach Dorset — versetzt werden).

Diejenigen Häutchen sind zur Ueberimpfung am besten geeignet, bei welchen an der Oberfläche hie und da kleine Verdickungen, eine Art Knötchen, zum Vorschein gekommen sind; dabei ist zu beachten, daß nicht zu kleine Häutchenfetzen überimpft werden. Findet nach einer Woche kein Wachstum statt, so muß die Impfung wiederholt werden. Wenn das zur Impfung dienende Häutchen nicht ganz geeignet ist oder zu Boden sinkt, so empfiehlt es sich, dasselbe auf eine Art Schwimmholz zu setzen, das folgendermaßen hergestellt wird: Mit einem Lochseisen, welches gewöhnlich in den Laboratorien zur Bereitung von Kartoffelzylindern angewendet wird, schneidet man aus Kork eine dünne Scheibe aus (solche Scheibe kann man natürlich einfach von einem Korkpfropf abschneiden); in gleicher Weise werden zwei münzenartige, flache Kartoffelscheiben ausgeschnitten — die eine etwas dicker, die andere dünner. Nun näht man alle drei Scheiben zusammen, die Korkscheibe zwischen den zwei Kartoffelscheiben; die dickere Kartoffelscheibe sinkt nach unten und hält diese Art Schwimmholz im Gleichgewicht, die dünnere empfängt das Tuberkelbazillenimpfhäutchen. Man kann die Dicke der Scheiben leicht so regulieren, daß dieses Schwimmholz stabil wird, nicht umstürzt und die obere Kartoffelscheibe nur sehr wenig über die Oberfläche der Flüssigkeit hervorragt. Solche Schwimmhölzer können bei Ueberimpfung von Tuberkelbazillenhäutchen in Kolben nützlich sein; dazu sind am besten mit Bouillon halbgefüllte Kolben mit 2 Halsen geeignet, da in solchen der Luftwechsel viel rascher, als in gewöhnlichen vor sich geht. Für die Impfung in flachen Kolben nach Dr. Roux sind die Schwimmhölzer nicht ganz praktisch; dazu empfiehlt sich eine einfachere Vorrichtung: Es wird in den flachen Kolben ein aus einer Kartoffel ausgeschnittenes, langes, schleifsteinartiges Stück geworfen, das so dick sein muß, daß es kaum über die Oberfläche der Nährflüssigkeit emporragt; auf dieses wird nun das möglichst große Bacillenhäutchen aufgetragen. Die ungünstige Seite eines solchen Stückes besteht in seiner Beweglichkeit. Es erwies sich praktischer folgenderweise zu verfahren: Ein langes, ziemlich rechtwinkeliges Kartoffelstück wird auf einen, durch sein oberes Ende geführten, ziemlich starken Faden gehängt; der Faden wird neben dem Wattepfropf aus dem Halse des Kolbens nach außen geführt und um den Hals befestigt; das Kartoffelstück wird dabei in schiefer Stellung fixiert, sein unteres Ende wird horizontal abgeschnitten, und liegt dann dem Boden dicht an. Nun wird auf die obere schiefe Fläche das Kulturmaterial aufgetragen. Bevor die Sterilisation geschieht, wird darauf geachtet, daß der Faden und das obere Ende der gut fixierten Kartoffelunterlage die Impfung nicht hindert. Diese einfache Vorrichtung erlaubt die Impfung in flachen Roux-Kolben ebenso gut, wie auf Kartoffel im Reagensglas auszuführen. Zur Impfung wird eine genügend große Quantität Tuberkelbacillen vor der Kartoffelkultur entnommen und auf dem Kartoffelkeil sorgfältig ausgebreitet (zerrieben), und dabei nicht nur an der oberen Fläche, sondern möglichst mit

Vorsicht auch an den Seitenflächen. Auf dem Kartoffelschwimmholz, ebenso wie auf dem Kartoffelkeil, kommt es zu sehr üppigem Wachstum der Kultur, die anfangs sehr oft nur an Dicke zunimmt, dann aber, nach und nach, von der Kartoffelunterlage auf die Flüssigkeitsoberfläche sich in Form eines dicken Häutchens ausbreitet. Alle diese Vorrichtungen können ein gutes, natürlich schwimmendes Häutchen nicht ersetzen, da in letztem Falle der Wuchs auf der Bouillonoberfläche viel schneller vor sich geht. Bei gut gelungenem Medium wird der Wuchs des überimpften Häutchens schon in den ersten Tagen bemerkbar; nach $1\frac{1}{2}$ –2 Wochen ist schon die ganze Oberfläche vom Belage bedeckt, der immer dicker wird, sich in zahlreiche Falten legt, an den Wänden des Kolbens emporsteigt, eine ganz beträchtliche Dicke erreicht und schließlich wegen seiner Schwere zu Boden sinkt. Bei Impfung in zweihalsigen Kolben mit 200–250 ccm Kartoffelbouillon erreicht die Menge der abfiltrierten, mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschenen und zwischen sterilisiertem Filtrierpapier abgepreßten Tuberkelbacillen bis 5,0–6,0 g.

Die nach der oben angegebenen Vorschrift bereitete Bouillon kann auch zur Darstellung von Kartoffelagar benutzt werden; darüber gedenke ich später eine Notiz zu veröffentlichen.

Im Februar dieses Jahres erschien im Centralblatt für Bakt., Orig. Heft 2, eine Abhandlung von Herrn Reeser „Das Tuberkulin“, in welcher der Verfasser eine detaillierte Methode zur Darstellung einer Kartoffelbouillon angiebt. Die erwähnte Publikation hat die Veröffentlichung meiner Notiz verspätet, da ich dieses Reesersche Medium prüfen und mit dem meinigen vergleichen wollte. Dies konnte ich leider aus äußeren Gründen nicht vollziehen.

Nachdruck verboten.

Zur Frage über die Einheit der Zusammensetzung und Herstellungsweisen von Nährsubstraten für Bakterien.

Bestimmung von Agar-Agar und Gelatine in bakteriellen Substraten.

Von M. Dominikiewicz, Lodz.

Zur Herstellung fester Substrate wird Agar-Agar sowie Gelatine benutzt.

Bei der Benutzung des Agar-Agars wird letzterer in Form von Pulver oder kleinen Stücken in heißer Fleischbouillon in einer Menge von 2–3 Proz. zur Lösung gebracht, worauf Soda bis zur Erhaltung einer alkalischen Reaktion hinzugefügt wird. (Der Agar-Agar enthält gewöhnlich etwas Essig- oder Schwefelsäure, die von der Fabrikation herkommt.) Die Lösung wird alsdann filtriert.

Die Filtration derselben ist eine Operation, die das Erhalten des nötigen Substrates sehr erschwert, und zwar aus folgenden Gründen: Da der Agar in hohem Maße kolloide Eigenschaften besitzt, so filtriert er in Wasserlösung außerordentlich schlecht, und, freilich nur in heißem Zustande, unter dem Einfluß der Alkalien sowie der hohen Temperatur, scheidet sich dabei ein schmutzig-grauer Niederschlag ab, der die Poren des Filters in störender Weise verlegt. Infolgedessen filtriert ein Liter dieser Lösung sehr lange Zeit, etwa 4–6 Tage, wobei das Filter einigemal gewechselt werden muß. Während der Filtration muß die Lösung bei 100° gehalten werden. Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß man wiederholt versucht hat, den Filtrationsprozeß auf verschiedene Art zu vereinfachen und zu beschleunigen. Indessen waren alle Versuche erfolglos geblieben, manche konnten nicht allgemeine Verbreitung finden.

Hinzu kommt, daß infolge des längeren Verweilens in hoher Temperatur die Agarlösung rasch eingedichtet wird, wohl infolge der Wasserverdunstung. Auch gegen dieses Uebel wurden spezielle Apparate zur Filtration des Agars unter Druck in Bewegung gesetzt, doch schlugen alle Versuche fehl.

Die Folge all der oben geschilderten Schwierigkeiten ist, daß die Zusammensetzung des schließlich erhaltenen Nährbodens eine rein zufällige ist und nicht im mindesten der Forderung der Vorschrift entspricht, nach der das Substrat zubereitet worden ist: Erstens, bleibt ein Teil des Agars auf den Filter zurück, dann ist die ganze Mischung eingedichtet, enthält also nicht die nötige Menge von Bestandteilen, und wird es nie weiter, auch nach dem nachträglichen Hinzugießen von Wasser an Stelle des verdunsteten nicht aus dem einfachen Grunde tun, weil eine bedeutende Menge der filtrierten Flüssigkeit bei dem Wechsel der Filter verloren geht.

Das oben Gesagte bezieht sich auch auf die Herstellung von Gelatine, nur daß hier die Erhaltung einer klaren, durchsichtigen Flüssigkeit noch auf größere Schwierigkeit stößt. Das Nährsubstrat muß hier 15 Proz. reiner Gelatine enthalten, die ebenso schlecht filtriert, wie der Agar. Doch kann die Gelatine nicht längere Zeit in der Temperatur von kochendem Wasser verbleiben, da sie dabei die Fähigkeit, später fest zu werden, einbüßt. Es ist deshalb auch nicht geboten, sie im Kochschen Sterilisator oder im Digestor zu filtrieren. Hier werden gewöhnlich Doppeltrichter verwendet, zwischen deren Wänden kochendes Wasser sich befindet, wobei die Temperatur automatisch reguliert wird.

Zu den wichtigsten Operationen bei der Herstellung von Nährsubstraten gehört auch die Behandlung derselben mit Alkalien. Dies wird gewöhnlich in folgender Weise ausgeführt: Zu der heißen Lösung wird in kleinen Portionen Sodalösung hinzugefügt und die Reaktion mit Lackmuspapier geprüft. Diese Art der Prüfung ist aber nicht tauglich, da infolge der Dichte der Flüssigkeit der Lackmuspapierstreifen die Farbe schlecht wechselt, so daß die Erzielung eines gleichmäßigen Grades der Alkaleszenz unmöglich wird.

Dem könnte dadurch abgeholfen werden, daß man z. B. eine Normal-sodalösung benutzt, von der man jedesmal eine bestimmte Menge für eine bestimmte Menge Nährsubstrat nehmen würde. Doch muß nicht vergessen werden, daß die Azidität verschiedener Agar- oder Gelatineportionen verschieden ist.

Angesichts dieser Schwierigkeiten muß man zu dem Schlusse kommen, daß die zurzeit übliche Herstellungsweise der Substrate nicht im mindesten die Konstanz sowie die Gleichmäßigkeit ihrer Zusammensetzung garantiert.

Aus diesem Grunde können wir nicht die Zusammensetzung der Nährsubstrate bei der zurzeit üblichen Herstellungsweise als eine konstante Größe oder als ein bestimmte Eigenschaften besitzendes Medium annehmen; dies ist freilich von negativem Einfluß auf die bei den Versuchen erhaltenen Resultate. Die Frage gewinnt noch mehr an Verwicklung, wenn man bedenkt, daß in verschiedenen Laboratorien Nährsubstrate hergestellt werden, die nicht nur verschieden sind in Hinsicht auf die Herstellungsweise, sondern auch in Hinsicht auf die Zusammensetzung derselben.

Angesichts dieser Umstände erscheint die Einführung einer Einheitlichkeit in den verschiedenen Herstellungsarten sowie in Zusammensetzung der Nährsubstrate, wie ich glaube, sehr wünschenswert. Ohne

hier näher auf das Wesen und die Bedeutung der Frage der Einheitlichkeit der Substrate einzugehen, was ich anderen überlassen will, möchte ich vorläufig nur eine Methode zur Herstellung von Substraten beschreiben, die eine bestimmte, konstante Zusammensetzung derselben bezweckt.

So suchte ich zunächst eine Methode zur Herstellung von Agar-substraten zu finden, bei der die Filtrationsschwierigkeiten in Wegfall kommen. Zu diesem Zwecke bediente ich mich folgender Methode:

30–40 g Agar-Agar in Pulverform werden in 200–400 ccm Wasser bei Erwärmung aufgelöst. Die laue Lösung wird in dünnem Strahle in 700–800 ccm (oder noch mehr) Alkohol, der mit Essigsäure schwach angesäuert worden ist, gegossen, wobei die Flüssigkeit fortwährend mittelst eines Glasstabes angerührt wird. Der Agar-Agar fällt dann alsbald aus der Lösung in Gestalt eines lockeren, weissen Niederschlages aus. Nachdem die Flüssigkeit tüchtig geschüttelt worden und der Niederschlag zu Boden gefallen war, wird der Alkohol abgegossen, der Agarniederschlag aber auf einem Büchler-Trichter gesammelt, wo er so lange mit Alkohol ausgewaschen wird, bis das Filtrat eine neutrale Reaktion zeigt. Statt des Büchlerschen Trichters kann auch ein über einem Rahmen ausgespanntes Stück Leinwand benutzt werden. Nachdem der Alkohol weggesaugt worden, muß der Agar-Agar bei 100° getrocknet werden. Der derart getrocknete Agar-Agar stellt ein feines, leichtes, schneeweisses Pulver dar, oder aber eine schwammige, leicht pulverisierte Masse.

Fügen wir den auf solche Weise erhaltenen Agar-Agar zu Fleischbouillon hinzu, so erhalten wir, ohne zu filtrieren, ein Substrat, dessen Eigenschaften bestimmt und konstant sind.

Die oben angegebene Vorschrift zur Herstellung eines gereinigten Agar-Agars ist durchaus nicht schwierig, doch ist dabei eine ziemlich große Alkoholmenge nötig, um verhältnismäßig kleine Mengen Agar reinigen zu können. Dies kann jedoch kaum als ein Hindernis gelten, denn der Alkohol kann auf jeden Fall auch aufs neue durch Destillation wiedergewonnen werden.

Hat man neutralen, reinen Agar-Agar zur Verfügung, dessen Lösung nicht mehr filtriert zu werden braucht, so ist es leicht, aus derselben ein festes Nährsubstrat von bestimmter Zusammensetzung herzustellen. Zu diesem Zwecke genügt es, Fleischbouillon mit genügendem Gehalt an reinen Bestandteilen sowie mit Gehalt an Wasser, als nötig ist, vorzubereiten. Nach vorhergehender Neutralisation der durchkochten Bouillon wird dieselbe mit Wasser bis zum nötigen Volumen verdünnt, dann geschüttelt und schließlich filtriert. Um nun das Agarsubstrat zu erhalten, wird in Bouillon die nötige Menge reinen Agar-Agars aufgelöst, wenn die Flüssigkeit im Sterilisator erwärmt wird; dann ist das Substrat fertig.

Zur Herstellung der Bouillon ist das Fleischextrakt nicht verwendbar, da die Zusammensetzung desselben, sowie der Gehalt an Salz unbeständig sind.

Die Neutralisation der Bouillon ist vor dem Sieden vorzunehmen, da während derselben ein Niederschlag sich bildet, den man mit Hilfe der Filtration entfernt, wobei man das Filter mit dem bis zum nötigen Volumen fehlenden Wasser durchwaschen läßt. Die Neutralisation jedes Substrates muß unbedingt mit Hilfe einer titrierten Normalalkalilösung geschehen, denn nur auf solche Weise kann man den gewünschten und genauen Alkaleszenzgrad direkt durch die Menge der Normalalkalilösung

(in Kubikzentimetern) in 1 l Substrat oder durch den Prozentgehalt an Alkali ausdrücken.

Selbstverständlich kann man den Alkaleszenzgrad des Nährbodens auch auf einfachem analytischen Wege bestimmen. Ein Nährsubstrat von gewünschter Zusammensetzung kann man noch auf anderem Wege erhalten: Vor allem bereiten wir eine Fleischbouillon mit geringerem Wassergehalt als nötig ist, d. h. also eine konzentrierte Bouillon. Sodann verleihen wir derselben die gewünschte Alkaleszenz, erhitzen bis zum Kochen und filtrieren. Dabei achten wir darauf, nichts bei all den Operationen verloren gehen zu lassen. Nachdem wir dann den Konzentrationsgrad genau festgestellt haben, erhalten wir die Flüssigkeit im sterilen Zustande.

Davon unabhängig, stellen wir eine konzentrierte, z. B. 10-proz. Agarlösung her. Diese Lösung neutralisieren wir vor allem. Zu diesem Zwecke entnehmen wir mittelst einer Pipette 50 ccm der noch heißen Lösung, gießen deren Inhalt in einen Kolben, verdünnen mit kochendem Wasser, nachdem wir die Pipette ausgespült haben und titrieren mittelst $\frac{1}{10}$ Normallaugelösung in Anwesenheit von Phenolphthalein. Auf diese Weise finden wir die Menge der Lauge, die man zur Neutralisation der gelösten Agarmenge braucht. Die neutralisierte Agarlösung wird in bisher üblicher Weise filtriert und in gut verkorkten Gefäßen aufbewahrt.

Will man Nährsubstrat herstellen, so gießt man die Agarlösung mit der Bouillon in den nötigen Mengen zusammen.

Ebenso kann man eine vorrätig zu haltende Gelatine herstellen. Doch muß in diesem Falle die nötige Bouillon mehr, die Gelatine dagegen weniger konzentriert sein, da eine stärker konzentrierte Gelatine-lösung nur äußerst schlecht filtriert werden kann.

Die in der oben geschilderten Weise hergestellten Nährsubstrate haben die Eigenschaft, daß in ihnen die Mengen der Bestandteile sowie der Alkaleszenzgrad ziemlich genau enthalten sind. Nur kann die Menge der bindenden Substanz aus oben angegebenen Gründen nicht genau dosiert werden.

Um dies zu vermeiden, bedienen wir uns der Bestimmungsmethoden von Agar-Agar und Gelatine in vorrätigen konzentrierten Lösungen. Hat man in denselben genau den Gehalt an Agar oder Gelatine ermittelt, so ist es nicht schwer, aus denselben Substrate herzustellen, die einen genau bestimmten Gehalt an bindenden Substanzen besitzen.

Zur quantitativen Bestimmung von Agar-Agar bedient man sich folgender Methode:

Es werden in einem kleinen Gläschen 5—10 g der vorrätigen Agar-gallerte abgewogen und darauf in ein größeres Glas übergeführt. Nachdem man das kleine Gläschen tüchtig mit kochendem Wasser ausgespült hat, wird der Agar auf einem Wasserbad verflüssigt. In diese Lösung werden rasch 100—150 ccm 95- oder 90-proz. Alkohol gegossen und der Inhalt des Glases mit einem Glasstäbchen angerührt.

Der Agar-Agar fällt dann als weißes Pulver auf dem Boden des Gefäßes aus. Nach Verlauf von 2—3 Stunden wird die Flüssigkeit durch ein getrocknetes und abgewogenes Filter hindurchgelassen, das in einem Gooch'schen Tiegel wie ein Gefäß aufgestellt worden ist. Der gesamte Agar wird alsdann quantitativ auf dem Filter gesammelt, indem letzteres sowie Glas mittelst Alkohols ausgespült wird.

Nachdem man den ganzen Niederschlag gesammelt und gewaschen hat, wird der Tiegel in die Trockenkasten zur völligen Austrocknung gebracht, was etwa 2 Stunden in Anspruch nimmt.

Sodann wird das Filter gewogen. Nach Abzug des Filtergewichtes findet man durch Berechnung den Agargehalt der vorrätigen Gallerte. Zur Bestimmung des Gehaltes an Gelatine benutzt man den Umstand, daß letztere Stickstoff enthält.

Die Stickstoffmengen der Handelsgelatine¹⁾ sind folgende:

| | |
|---|-------------|
| nach Chittenden | 17,97 Proz. |
| „ Faust | 17,68 „ |
| „ Sadikoff | 18,18 „ |
| „ meinen eigenen Versuchen (das Mittel aus vier Bestimmungen) ²⁾ | 18,03 „ |

Der Stickstoff wird in 2—5 g der vorrätigen Gelatinegallerte nach Kjeldahl bestimmt. Auf diese Weise ist es vollkommen möglich, die Zusammensetzung der Nährsubstrate nach Belieben zu ändern und festzustellen. Den Stickstoffgehalt der Gelatine kann man zu rund 18 Proz. annehmen.

Nachdruck verboten.

Erwiderung auf die „Kritischen Bemerkungen“ des Herrn Dr. Ph. Eisenberg.

Von Priv.-Doz. Dr. **J. J. van Loghem**, Amsterdam,
Loco-Direktor des Patholog. Laboratoriums, Medan, Deli, Sumatra.

Meine Mitteilung über Agglutinations- und Komplementablenkungsversuche mit Typhusimmunsera (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. p. 539) hat Herrn Eisenberg zu einigen „kritischen Bemerkungen“ veranlaßt (ibid. Bd. XLVI. p. 371), welche insbesondere den Zweck haben, seine Proagglutinoidtheorie gegenüber den Ergebnissen meiner Versuche zu verteidigen. Da ich auch jetzt nicht die Absicht habe, meinen tatsächlichen Mitteilungen ausführliche theoretische Betrachtungen anzuschließen, kann ich mich in meiner Antwort hauptsächlich auf die Richtigstellung einiger Ungenauigkeiten in Herrn E.'s Artikel beschränken und auf einen kurzen Nachtrag bezüglich einiger Punkte, wo die Kürze meiner Arbeit vielleicht die Deutlichkeit beeinträchtigte.

Durch meinen Aufenthalt außerhalb Europas hat diese Antwort leider beträchtliche Verspätung erlitten.

Herr E. meint, ich habe seine ausführliche literarische und theoretische Arbeit in dieser Zeitschrift übersehen, und macht mir zugleich einen Vorwurf über meine kurz gefaßten Literaturangaben. Was den ersten Punkt betrifft, so irrt Herr E. sich: Seine Arbeit war mir nicht nur bekannt, sondern ich erwähnte dieselbe im Texte meiner ersten Mitteilung über diesen Gegenstand (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. p. 186); außerdem sind Herr E. und ich nicht einig über die gewünschte Dimension einer einfachen Veröffentlichung von Versuchsergebnissen.

Für mich galt es nur, das Tatsächliche an das Tatsächliche zu knüpfen, und zu diesem Zweck wählte ich die primären Befunde aus der mir zugänglichen Literatur, um meine Befunde einzuleiten; ich hatte

1) Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper. 1904. p. 285.

2) Französische Gelatine in blauer Verpackung mit silbernem Adler.

um so weniger Anlaß, auf die Stellung der Proagglutinoidtheorie zu den Hemmungserscheinungen bei Versuchen mit frischen Sera einzugehen, als dieselbe den von mir untersuchten hemmenden Einfluß von normalen Serumssubstanzen überhaupt nicht berührt.

Herr E. meint weiter anläßlich meiner Äußerung über die mögliche Komplementnatur des normalen thermolabilen Hemmungskörpers, solche Analogisierungen seien nur berechtigt, wenn sie zu neuen Tatsachen verhelfen. Dann wundere ich mich, daß mein Kritiker meine Analogisierung nicht sanktioniert hat: Dieselbe hat doch erstens zu den Versuchen mit normalen Seren geführt und zweitens zu den parallelen Komplementbindungsversuchen, welche einen bemerkenswerten Unterschied zwischen den bei den Hemmungsversuchen benutzten Suspensionen an den Tag gebracht haben.

Der Gedanke, welcher meinen Komplementbindungsversuchen mit Seren von Ficker-Kaninchen zugrunde lag, wurde von mir nicht klar genug mitgeteilt. Herr E. hat denselben wenigstens offenbar nicht verstanden und zitiert mich daher unrichtig. Für mich öffneten sich bei der Untersuchung des Hemmungsphänomens, herbeigeführt durch normale thermolabile Serumssubstanzen, zwei Möglichkeiten: Entweder hemmte das „Komplement“ selber durch temporäre Besetzung gewisser Rezeptoren der agglutinablen Substanz, oder es waren Ambozeptoren im Spiele, welche nur mit Hilfe von Komplement ihre Wirkung entfalteten.

Ohne „auf die Seitenkettentheorie zu schwören“, kann man doch vom Standpunkte dieser Theorie Versuche ausführen und in dieser Weise vielleicht neue und erklärende Tatsachen zutage fördern. Denken wir uns den Fall, daß die Ficker-Kaninchen — behandelt mit einer Suspension, welche mit frischen Immunseren keine Hemmungserscheinungen darbietet — Sera geliefert hätten, die im frischen Zustand auch lebende Bacillen ohne Hemmung agglutinierten, dann würde ein solches Ergebnis doch gewiß ein Argument dargestellt haben für die Anwesenheit von hemmenden Ambozeptoren in frischem Immunserum. Wo die Versuche mit Ficker-Sera umgekehrt ausgefallen sind, mußte ich dieselben doch mitteilen und den Grund, aus welchem sie unternommen worden sind, wenigstens kurz erwähnen.

In meiner Publikation teilte ich auch einige Agglutinationsversuche mit, hoch erhitzte Sera betreffend, welche beweisen, wie vorsichtig man sein muß, aus dem negativen Ausfall mit gewissen lebenden Suspensionen etwas auszusagen über die Anwesenheit einer labilen fällenden Gruppe und einer stabilen bindenden Gruppe im Agglutinin: Einige parallele Versuche mit Ficker-Bacillen verliefen ohne Hemmungsphänomene, und zeigten also, nach dem Titer des Serums zu urteilen, das ungeschädigte Vorhandensein der fällenden Gruppen, welche bei der Benutzung einer anderen Suspension (lebende „Ty. lab“) erloschen schienen.

Herr Eisenberg zieht es vor, „der Einheitlichkeit der Auffassung wegen“, auch dieses Resultat bei der Proagglutinoidtheorie unterzubringen; er meint, „der Oekonomie des Denkens sei damit besser gedient“. Meines Erachtens kann man darüber streiten: Bei dem einheitlichen Standpunkt läuft man Gefahr, daß man dann neue Tatsachen nicht immer zu Gesicht bekommt. Je mehr die Hemmungsphänomene untersucht werden, desto weiter scheinen sie vorläufig voneinander entfernt; teilweise sind sie abhängig von normalen, thermolabilen Serumssubstanzen, teilweise von Änderungen eben durch thermische oder chemische Schä-

digungen hervorgerufen, teilweise auch scheinen sie in Zusammenhang zu stehen mit Vorgängen im Organismus, welche zur Immunität gehören. Ich ziehe es also vor, mit Theoretisieren zu warten, bis die Tatsachen besser bekannt sind, und nehme vorläufig verschiedenartige Substrate an als Ursache für Erscheinungen, welche mir nach ihrem Wesen verschieden vorkommen. Niemand hofft indessen mehr als ich, daß auch in diesen und anderen, größeren und mehr prinzipiellen Fragen der Immunität der gewünschte einheitliche Standpunkt so bald wie möglich erreicht wird.

Zum Schluß bedaure ich es, daß Herr Eisenberg am Ende seiner, mir übrigens in mancher Hinsicht interessanten Kritik zwei technische Bemerkungen niederschrieb, welche er wohl bei einem nochmaligen Durchsehen meiner Arbeit gestrichen hätte: p. 541 kann Herr E. finden, wie ich meine Suspensionen darstellte; p. 545 ist angegeben worden, daß in denjenigen Versuchen, in welchen bei Konzentration von 1:25 die Hemmung ausblieb, auch in einer stärkeren Konzentration untersucht wurde.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

- | | |
|--|---|
| <p>Bartel, Julius und Neumann, Wilhelm, Das Verhalten der Tuberkelbacillen in „indifferenten“ Flüssigkeiten. (Schluß), p. 572.</p> <p>v. Betegh, L., Neue differentialdiagnostische Färbemethode für Tuberkel-, Perlsucht- und andere säurefeste Bacillen, nebst Strukturstudien bei verschiedenen säurefesten Bakterienarten, p. 654.</p> <p>Carapelle, E., Ueber die Reduktionserscheinungen der Bakterien, p. 545.</p> <p>Comolli, Antonio, Ueber die Folgen der Impfung von Mikroorganismen in die Gelenkhöhle der normalen und immunisierten Tiere, p. 590.</p> <p>Dominikiewicz, M., Zur Frage über die Einheit der Zusammensetzung und Herstellungsweisen von Nährsubstraten für Bakterien, p. 666.</p> <p>Fermi, Claudio, Wutinfektion und antibacilläre Immunisierung auf endorektalem Wege, p. 622.</p> <p>Galli-Valerio, B., Notes de Parasitologie, p. 608.</p> <p>Guyot, G., Ueber die bakterielle Häm-agglutination (Bakterio-Haemoagglutination), p. 640.</p> <p>Hübener, Ist der <i>Bacillus suipestifer</i> der Erreger der Schweinepest oder nicht? p. 586.</p> | <p>Jurewitsch, W., Kartoffelnährbouillon zur Züchtung der Tuberkelbacillen, p. 664.</p> <p>van Loghem, J. J., Erwiderung auf die „Kritischen Bemerkungen“ des Herrn Dr. Ph. Eisenberg, p. 670.</p> <p>Marx, E., Der Erreger der Pneumonie eines Königstigers (<i>Bacillus pneumoniae tigris</i>), p. 581.</p> <p>Mc Ilvaine Phillips, James and McCampbell, Eugene Franklin, Infectious Jaundice due to <i>Piroplasma commune</i>, p. 592.</p> <p>Nedrigailoff, V., Die Methoden der Impfungen gegen die Tollwut in russischen und ausländischen Pasteur-Instituten, p. 627.</p> <p>Negri, A., Beobachtungen über Sarkosporidien, p. 612.</p> <p>Preisz, H., Ueber Varietäten des abgeschwächten Milzbrandvirus, p. 585.</p> <p>Ruge, Reinhold, Zur Erleichterung der Meningokokkendiagnose, p. 584.</p> <p>— und Bogge, Die Paratyphuserkrankungen an Bord S. M. S. „Blitz“, p. 560.</p> <p>Stern, Nicolai, Ueber das Verhalten der Choleravibrionen dem menschlichen Mageninhalt gegenüber, p. 561.</p> <p>Yamamoto, J., Eine Silberimprägnationsmethode zur Unterscheidung von Lepra- und Tuberkelbacillen, p. 570.</p> |
|--|---|

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XLVII enthaltenen Arbeiten.

- Anastasiades, Sophokles, J.**, Ein Fall von Febris recurrens. 466
- Arndt**, Studien zur Immunität und Morphologie bei Vaccine. 237
- Arnsdorff, Alfred**, Monostomum vicarium n. sp. 362
- Baglinsky, Adolf**, Zur B. pyocyaneus-Infektion im kindlichen Alter. 427
- Bartel, Julius und Neumann, Wilhelm**, Das Verhalten der Tuberkelbacillen in „indifferenten“ Flüssigkeiten. 401. 572.
- Battaglia, Mario**, Einige Untersuchungen über das Nagana-Trypanosoma. Vorläufige Mitteilung. 350
- Baumann E. und Rimpau, W.**, Bakteriologische Blutuntersuchungen bei Typhus, insbesondere durch die Gallekultur. 136
- Belfanti, S.**, Ueber antitoxisches und antimikrobisches (bivalentes) Diphtherieserum. 248
- Benezur, Julius s. Kentzler, Julius.**
- Bertarelli, E. und Cecchetto, E.**, Beitrag zur Aetiologie des Trachoms. 432
- Betegh, L. v.**, Neue differentialdiagnostische Färbemethode für Tuberkel-, Perlucht und andere säurefeste Bacillen, nebst Strukturstudien bei verschiedenen säurefesten Bakterienarten. 654
- Blumenthal, Franz s. Levy, E.**
- Busse, W.**, Ueber die Beeinflussung des hämolytischen Komplements durch Injektion Leukocytose erregender Mittel (Hetol und Hefenukleinsäure). 366
- Carapelle, E.**, Ueber die Reduktionerscheinungen der Bakterien. Experimentelle Untersuchungen. 545
- Cecchetto, E. s. Bertarelli, E.**
- Comolli, Antonio**, Ueber das Verhalten der Gelenkhöhle normaler und immunisierter Tiere bei Impfung mit Mikroorganismen. Vorl. Mitteilung. 590
- Dominikiewicz, M.**, Zur Frage über die Einheit der Zusammensetzung und Herstellungsweisen von Nährsubstraten für Bakterien. Bestimmung von Agar-Agar und Gelatine in bakteriellen Substraten. 666
- Eisenberg, Philipp**, Studien zur Ektoplasmatheorie. I. Teil. Ueber die Kapselbildung beim Milzbrandbacillus. 415
- Fenyvessy, B. v. s. Liebermann, L. v.**
- Fiebig, J.**, Ueber durch Trematoden verursachte Hautwucherungen bei Zeus faber und das subkutane Vorkommen von Trematodencysten. 62
- Fraenkel, C.**, Impfversuche mit spirillenhaltigem Blut. 349
- , Geißelfäden an den Spirillen des Recurrens- und des Zeckenfiebers. 471
- Fermi, Claudio**, Wutinfektion und antirabische Immunisierung auf endorektalem Wege. Zweite Mitteilung. 622
- Friedberger, E. s. Pfeiffer, R.**
- Gage, George, Edward**, A comparative study of media for the detection of Bacillus coli in drinking water. 280
- Galli-Valerio, B.**, Notes de Parasitologie. 608
- , Recherches expérimentales sur une sarcine pathogène. 177
- , Spirochétiase des poules déterminée à Lausanne avec Argas persicus Fischer de Tunisie. Note préliminaire. 494
- Glaessner K.**, Ueber Balantidienenteritis. 351
- Gonder, Richard**, Spirochäten aus dem Darmtraktus von Pinna: Spirochaete pinnae nov. spec. und Spirochaete Hartmanni nov. spec. Vorläufige Mitteilung. 491
- Gross, B. G.**, Vergleichende Untersuchungen über die Agglutination von Typhus- und Paratyphusbacillen im Verlaufe von Typhuserkrankungen. 519
- Grosz, S. s. Kraus, R.**
- Guyot, G.**, Ueber die bakterielle Hämagglutination (Bakterio-Haemoagglutination). 640
- Hottinger, Robert**, Bacillus supestifer. Spezifitätsfrage. Mikrobiologische Versuche. 31. 186
- Hübener**, Ist der Bacillus supestifer der Erreger der Schweinepest oder nicht? 586
- Jurewitsch, W.**, Kartoffelnährbouillon zur Züchtung der Tuberkelbacillen. 664
- Kentzler, Julius**, Berichtigung zu E. Levy: Bemerkung zu der Arbeit von J. Kentzler „Beitrag zur Hämolysinbildung der Typhusbacillen“. 379
- , und Benezur, Julius, Agglutination bei Mischinfektion. 263
- Kohl, Nina s. Yakimoff, W. L.**
- Konrádl, Daniel**, Ist die Wut vererbbar? Ist das Blut Lyasakranker infektionsfähig? (Fortgesetzte Untersuchungen.) 203
- Kraus, R. und Grosz, S.**, Ueber experimentelle Hauttuberkulose bei Affen. 298
- und Schwoner, J., Ueber Beziehungen des Antitoxingehaltes des Diphtherie-

- serums zu dessen Heilwert. Ueber Avidität der Antitoxine. I. Mitteilung. 124
- Levy, E., Blumenthal, Franz und Marxer, A.,** Experimentelle Untersuchungen über Tuberkulose. 2. Mitteilung. 289
- Liebermann, J. J. s. Maslakowetz, P. P.**
- , **L. v.,** Zur Abwehr. [Betr. Arbeit von Kurt Meyer: Ueber die Säurenatur der hämolytischen Immunkörper. Bd. XLVI, p. 337.] 511
- , **Hämagglutination und Hämolyse.** 372
- und **Fenyvessy, B. v.,** Isolierung und Reinigung der Immunkörper hämatolytischer Immunsera. 274
- Löhe s. Mühlens, P.**
- Loghem, J. J. van,** Erwiderung auf die „Kritischen Bemerkungen“ des Herrn Dr. Ph. Eisenberg. [Betr. Agglutinations- und Komplementablenkungsversuche mit Typhusimmuneserum.] 670
- Marx, E.,** Der Erreger der Pneumonie eines Königstigers (*Bacillus pneumoniae tigris*). 581
- Marxer, A. s. Levy, E.**
- Maslakowetz, P. P. und Liebermann, J. J.,** Theorie und Technik der Reaktion von Wassermann und die diagnostische Bedeutung derselben. 379
- McC Campbell, Eugene Franklin s. McIlvaline Phillips, James.**
- McIlvaline Phillips, James and McCampbell, Eugene Franklin,** Infectious Jaundice due to *Piroplasma commune*. 592
- Meyer, Kurt,** Erwiderung auf die Abwehr v. Liebermanns. [Betr. Säurenatur der hämolytischen Immunkörper.] 512
- Mühlens, P. und Löhe,** Ueber Züchtungsversuche der *Spirochaete pallida*. 487
- Nedrigaloff, V.,** Die Methoden der Impfungen gegen die Tollwut in russischen und ausländischen Pasteur-Instituten. 627
- Negri, A.,** Beobachtungen über Sarkosporidien. 56
- , Beobachtungen über Sarkosporidien. Zweite Mitteilung. 618
- Neumann, Wilhelm s. Bartel, Julius.**
- Ottolenghi, D.,** Untersuchungen über *Trypanosoma Brucei* und über *Tr. equinum*. 473
- Padlewsky, L.,** Eine neue Anwendungsmethode des Malachitgrünagars zum Nachweis von Bacillen der Typhusgruppe. 540
- Pfeiffer R. und Friedberger, E.,** Zur Frage der Endotoxine und der Antiendotoxine bei Cholera und Typhus. 98
- —, Kommt der bei der aktiven Immunisierung auftretenden negativen Phase eine Bedeutung im Sinne einer erhöhten Empfänglichkeit des vaccinierten Individuums zu? 503
- Preis, H.,** Ueber Varietäten des abgeschwächten Milzbrandvirus. Vorläufige Mitteilung. 585
- Riemer,** Ueber eine nach Genuß von Leberwurst beobachtete Fleischvergiftung und deren Erreger. 169
- Rimpau, W. s. Baumann, E.**
- Rodella, A.,** Magencarcinom und Milchsäurebacillen (*Boas-Opplerscher Bacillus*, *Bacillus gastrophilus* und *Bacterium gastrophilum* Lehmann-Neumann, *Bacillus acidophilus* und *Bac. bifidus communis*). 445
- Rogge s. Ruge, Reinhold.**
- Ruge, Reinhold,** Zur Erleichterung der Meningokokkendiagnose. 584
- und **Rogge,** Die Paratyphuserkrankungen an Bord S. M. S. „Blitz“. 560
- Salomon, Ernst,** Zur Unterscheidung der Streptokokken durch kohlenhydrathaltige Nährböden. 1
- Saul, E.,** Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. 440
- Schereschewsky, J.,** Experimentelle Beiträge zum Studium der Syphilis. 41
- Schlörp, Harry,** Beitrag zur Biologie des *Bacillus vitulisepticus* und zur Immunisierung gegen die durch denselben hervorgerufene septische Pneumonie der Kälber. 307
- Schmidt, Otto,** Experimentelle Erzeugung maligner Tumoren bei Tieren durch Infektion. 342
- Schwoner, J. s. Kraus, R.**
- Sittler, Paul,** Beiträge zur Bakteriologie des Säuglingsdarmes. 14. 145. 400
- Stern, Nicolai,** Ueber das Verhalten der Choleravibrionen dem menschlichen Mageninhalt gegenüber. 561
- Stühlern, V. R.,** Ueber die klinisch-bakteriologische Bedeutung der quantitativen Bestimmung der Typhusbakteriämie. 393
- Unterberger, Franz,** Der Oxyuris vermicularis in seiner Beziehung zur Darmwand und Appendicitis. 495
- Wolff-Elsner, Alfred** nach gemeinschaftlich mit Dr. Ludwig Laband angestellten Versuchen. Die Bindungsverhältnisse der Organ gewebe gegenüber Toxinen und ihre klinische Bedeutung für Inkubation und natürliche Immunität. 70. 213
- Wretowski, T.,** Zwei neue Agglutinationsmethoden. 513
- Yakimoff, W. L. und Kohl, Nina,** Zur Infektionsmöglichkeit der Hühner mit Dourinetrypanosomen. 483
- Yamamoto, J.,** Eine Silberimprägnationsmethode zur Unterscheidung von Lepra- und Tuberkelbacillen. 570

II. Namen- und Sachverzeichnis.

- Affe, experimentelle Hauttuberkulose. 298
 Agar, Bestimmung in Lösungen. 669
 —, Malachitgrün-, zum Nachweise von Bacillen der Typhusgruppe. 540
 Agglutination, Häm- s. Hämagglutination.
 — bei Mischinfektion. 263
 — von Typhus- und Paratyphusbacillen während des Typhus, Vergleich. 519
 —, zwei neue Methoden. 513
 Agglutinationsversuche mit Typhusimmunis. 670
 Aggressive des *Bacillus vituli* septicus zur Immunisierung gegen septische Pneumonie. 320. 323
 Alkali, Bildung durch Streptokokken auf kohlenhydrathaltigen Nährböden. 8
Anopheles perfoliata, Vorkommen bei Pferden. 611
 Antidotoxine bei Cholera und Typhus. 98
 Antitoxine, Avidität. 124
 Antitoxingehalt des Diphtherieserums, Beziehungen zu dessen Heilwert. 124
 Appendicitis, Beziehung des Oxyuris vermicularis zu derselben. 495
Argas persicus, Ueberträger von Spirochäten auf Hühner. 494
Arquata maritima maritima, Wirt von *Monostomum vicarium*. 362
Ascaris canis, Vorkommen beim Hunde. 610
 — —, Vorkommen bei Katzen. 610
 — *equorum*, Vorkommen bei Pferden. 611
Aspergillus fumigatus, Reduktionsvermögen. 553
 Avidität der Antitoxine, Untersuchungen. 124
 Bacillen, Buttersäure- s. Buttersäurebacillen.
 —, Milchsäure- s. Milchsäurebacillen.
 — der Typhusgruppe, Nachweis mittels Malachitgrünagars. 540
Bacillus, bei Cholera nostras isoliert, Eigenschaften. 608
Bacillus der Fleischvergiftung Aertryck, Ähnlichkeit mit *Bacillus sui* pestifer. 189
 — *acidophilus*, morphologische und biologische Eigenschaften. 453
 — —, Vorkommen im Magen und Stuhl, diagnostische Bedeutung. 459
 — —, Vorkommen im Säuglingsdarm. 19
 — *anthracis*, abgeschwächter, Varietäten. 585
 — —, Kapselbildung. 415
 — —, Virulenz. 586
 — *bifidus communis*, morphologische und biologische Eigenschaften. 453
 — —, Vorkommen im Darm. 16. 145
 — — *communis*, Vorkommen im Magen und Stuhl, diagnostische Bedeutung. 459
 — *coli*, Nachweis in Wasser, Vergleich der Nährböden. 280
 — — *communis*, Verhalten der Gelenkhöhle bei Impfung mit demselben. 591
 — *diphtheriae*, Virulenz. 260
Bacillus diphtheriae columbarum, Ähnlichkeit mit *Bacillus sui* pestifer. 189
 — *exilis*, Vorkommen im Säuglingsdarm. 16
 — *gastrophilus* s. Milchsäurebacillen. 445
 — *icteroides* s. *Bacillus Sanarelli*. 661
 — *leprae*, Struktur. 661
 — —, Unterscheidung von Tuberkelbacillen mittels Silberimprägnation. 570
 — *morbificans bovis*, Ähnlichkeit mit *Bacillus sui* pestifer. 189
 — *paratyphi*, Agglutination, Vergleich mit der von Typhusbacillen während des Typhus. 519
 — — *B*, Ähnlichkeit mit *Bacillus sui* pestifer. 189
 — *perfringens*, Vorkommen im Säuglingsdarm. 22
 — *pneumoniae tigris* n. sp., Erreger der Pneumonie eines Königstigers, morphologische und kulturelle Eigenschaften. 581
 — *psittacosis*, Ähnlichkeit mit *Bacillus sui* pestifer. 189
 — *putrificus*, Vorkommen im Säuglingsdarm. 17
 — *pyocyaneus*-Infektion im Kindesalter, Untersuchung. 427
 — *Sanarelli*, Ähnlichkeit mit *Bacillus sui* pestifer. 189
 — —, Vergleich mit *Bacillus sui* pestifer. 31
 — —, verursachte anatomische Veränderungen. 35
 — *subtilis*, Reduktionsvermögen. 553
 — *sui* pestifer, Biologie. 40. 186
 — —, Charakteristik. 186
 — —, Epidemiologisches. 36
 — —, Erreger der Schweinepest oder nicht? 31. 586
 — —, Filtrierbarkeit. 40. 186
 — —, Immunität gegenüber desselben. 35
 — —, Inkubation. 33
 — —, Pathogenität. 34. 190
 — —, phylogenetische Variation. 191
 — —, Spezifität. 31. 186
 — —, Stellung im System. 189
 — —, Verbreitungsweise. 37
 — —, Vergleich mit *Bacillus Sanarelli*. 31
 — —, verursachte anatomische Veränderungen. 35
 — *tuberculosis*, differentialdiagnostische Färbemethode. 654
 — —, Struktur. 656. 658. 662
 — —, Unterscheidung von Leprabacillen mittels Silberimprägnation. 570
 — —, Verhalten in indifferenten Flüssigkeiten. 401. 572
 — —, Züchtung auf Kartoffelnährbouillon. 664
 — *typhi*, Agglutination, Vergleich mit der von Paratyphusbacillen während des Typhus. 519

| | |
|---|----------|
| <i>Bacillus typhi</i> , Hämolysinbildung. | 379 |
| — —, Nachweis im Blut, Gallekultur. | 136 |
| — —, Reduktionsvermögen. | 553 |
| — —, Verhalten der Gelenkhöhle bei Impfung mit demselben. | 591 |
| — —-Gruppe, Hämagglutinationsvermögen. | 642 |
| — — —, Nachweis mittels Malachitgrün-agars. | 540 |
| — — murium, Ähnlichkeit mit <i>Bacillus suipestifer</i> . | 189 |
| — <i>vitulisepticus</i> , Biologie. | 307. 309 |
| — —, Erreger der septischen Pneumonie der Kälber. | 308 |
| — —, Herstellung von Aggressinen. | 322 |
| — —, Herstellung von Extrakten. | 323 |
| — —, kulturelles Verhalten. | 309 |
| — —, Pathogenität für verschiedene Tiere. | 313 |
| <i>Bacterium coli</i> , Reduktionsvermögen. | 553 |
| — —, Vorkommen im Säuglingsdarm. | 17 |
| — —-Gruppe, Hämagglutinationsvermögen. | 642 |
| — enteritidis Gärtner, Erreger einer Leberwurstvergiftung. | 171 |
| — <i>gastrophilum</i> Lehm.-Neum. s. Milchsäurebacillen. | 445 |
| — <i>lactis aërogenes</i> , Vorkommen im Dünndarm. | 147 |
| — <i>paratyphi</i> B, Erreger von Paratyphuserkrankungen. | 560 |
| Bakteriämie, Typhus-, klinisch-bakteriologische Bedeutung ihrer quantitativen Bestimmung. | 393 |
| Bakterien, Hämagglutination. | 640 |
| —, Kapselbildung. | 415 |
| —, Milchsäure-, Wirkung auf die Bakterienflora des Säuglingsdarmes. | 26 |
| —, Reduktionsvermögen, Wirkung verschiedener Bedingungen. | 545 |
| —, säurefeste, differentialdiagnostische Färbemethode. | 654 |
| — —, Struktur. | 654 |
| —, Sporenbildung, Verhältnis zur Kapselbildung. | 426 |
| —, Vorkommen im Säuglingsdarm. | 14. 145 |
| Bakterienflora des Säuglingsdarmes. | 14. 145 |
| — — — bei pathologischen Zuständen. | 155 |
| — — —, Wirkung von Calomel. | 24 |
| — — —, Wirkung der Ernährung. | 16. 145 |
| — — —, Wirkung der Hefe. | 27. 145 |
| — — —, Wirkung von Lactobacillin. | 26 |
| — — —, Wirkung von Milchsäure. | 25 |
| — — —, Wirkung von Milchsäurebakterien. | 26 |
| — — —, Wirkung von Tannin. | 25 |
| — — —, Wirkung von Thiocol. | 25 |
| Bakterio-Hämagglutination s. Hämagglutination, bakterielle. | |
| Balantidienenteritis, Untersuchungen. | 351 |
| Balantidium coli, Enzyme. | 359 |
| — —, Hämolysin. | 360 |
| — —, spezifisches Serum gegen dasselbe. | 361 |
| — —, Ursache der Enteritis, Morphologie und Biologie. | 353 |

| | |
|---|---------|
| Bindungsverhältnisse der Gewebe gegenüber Toxinen und ihre Bedeutung für Inkubation und Immunität. | 70. 213 |
| Blut, Nachweis des <i>Bacillus typhi</i> mittels Gallekultur. | 139 |
| —, spirillenhaltiges, Impfversuche. | 349 |
| —, Wutkranker, Infektionsfähigkeit. | 209 |
| <i>Bothriocephalus latus</i> , Vorkommen beim Hunde. | 610 |
| Buttersäurebacillen, Vorkommen im Säuglingsdarm. | 148 |
| Calomel, Wirkung auf die Bakterienflora des Säuglingsdarmes. | 24 |
| Carcinom, Aetiologie und Biologie. | 440 |
| —, Magen- s. Magencarcinom. | |
| Cercarien, Vorkommen in <i>Limnaeus trunculatus</i> . | 610 |
| Cholera s. a. <i>Vibrio cholerae</i> . | |
| —, Endotoxine und Antiendotoxine. | 98 |
| — <i>nostrae</i> , Isolierung eines <i>Bacillus</i> . | 608 |
| —, Serum, antitoxisches, Untersuchung desselben. | 100 |
| <i>Ctenocephalus canis</i> , Rolle bei der Uebertragung von <i>Piroplasma commune</i> . | 607 |
| <i>Cysticercus fasciolaris</i> , Beziehung zu Geschwülsten. | 444 |
| Darm, Dick-, des Säuglings, Bakterienflora. | 147 |
| —, Dünn-, des Säuglings, Bakterienflora. | 147 |
| —, Säuglings-, Bakterienflora. | 14. 145 |
| —, —, Bakterienflora bei pathologischen Zuständen. | 155 |
| Darmkatarrh, Säuglingsdarmflora bei demselben. | 160 |
| Darmwand, Beziehung des <i>Oxyuris vermicularis</i> zu derselben. | 495 |
| <i>Dermacentor occidentalis</i> , Rolle bei der Uebertragung von <i>Piroplasma commune</i> . | 607 |
| Diphtherie, Serum, antitoxisches und antimikrobiisches (bivalentes). | 248 |
| —, —, Beziehungen seines Antitoxingehaltes zu seinem Heilwert. | 124 |
| <i>Dipylidium caninum</i> , Vorkommen beim Hunde. | 610 |
| — —, Vorkommen bei Katzen. | 610 |
| Dourine-Trypanosomen, Infektionsmöglichkeit der Hühner. | 483 |
| Dyspepsie, Säuglingsdarmflora bei derselben. | 155 |
| <i>Echinococcus polymorphus</i> , Vorkommen bei Pferden. | 611 |
| <i>Echinostomum</i> , Ursache von Hautwucherungen bei <i>Zeus faber</i> . | 62 |
| <i>Eimeria falciformis</i> , Vorkommen bei <i>Mus musculus</i> . | 610 |
| — <i>Stidai</i> (Lindemann), Vorkommen bei <i>Lepus timidus</i> . | 609 |
| Ektoplasmatheorie. | 415 |
| Empfänglichkeit, Bedeutung der bei der aktiven Immunisierung auftretenden negativen Phase hinsichtlich derselben. | 503 |
| Endotoxine bei Cholera und Typhus. | 98 |

- Enteritis, Balantidien-, Untersuchungen. 351
- Enterococcus, Vorkommen im Säuglingsdarm. 19
- Enzyme des Balantidium coli. 359
- Eustrongylus gigas, Vorkommen beim Hunde. 610
- Extrakte des Bacillus vitulisepticus zur Immunisierung gegen septische Pneumonie. 329
- Färbung, differentialdiagnostische, von Tuberkel-, Perlsucht- und anderen säurefesten Bacillen. 654
- Febris recurrens, Beobachtung. 466
- —, Geißelnachweis an den Spirillen. 471
- Filaria equina, Vorkommen bei Pferden. 611
- immitis, Vorkommen beim Hunde. 610
- Fleischvergiftung nach Genuß von Leberwurst, Erreger. 169
- Flüssigkeiten, indifferente, Verhalten der Tuberkelbacillen in denselben. 401. 572
- Gallekultur des Bacillus typhi zum Nachweise im Blute. 139
- Geißeln an den Spirillen des Recurrens- und Zeckenfiebers. 471
- Gelatine, Bestimmung in Lösungen. 670
- Gelbsucht, infektiöse, durch Piroplasma commune verursacht, Untersuchungen. 592
- , —, pathologisch-anatomische Untersuchung. 593
- Gelenkhöhle normaler und immunisierter Tiere, Verhalten bei Impfung mit Mikroorganismen. 590
- Gewebe, Attraktion von Tetanustoxin. 91. 213
- , Bindung von Tetanustoxin. 79. 90. 213
- , Toxinbindung und deren Bedeutung für Inkubation und Immunität. 70. 213
- Glyzerin, Wirkung auf Suspensionsmittel für Tuberkelbacillen. 402. 572
- Grasbacillus, Struktur. 662
- Hämagglutination, bakterielle, Untersuchungen. 640
- , Beziehung zur Hämolyse. 372
- , durch Ricin verursacht, Wirkungsart. 376
- Hämolyse, Beziehung zur Agglutination. 372
- , durch Ricin verursacht, keine Säurewirkung. 372
- , Isolierung und Reinigung der Immunkörper hämatolytischer Sera. 274
- , Säurenatur der hämolytischen Immunkörper. 511. 512
- , Wirkung Leukocytose erregender Mittel auf das hämolytische Komplement. 366
- Hämolysin des Balantidium coli. 360
- , Bildung bei Bacillus typhi. 379
- Hauttuberkulose, experimentelle, bei Affen. 298
- Hautwucherungen bei Zeus faber durch Trematoden. 62
- Hefe, Wirkung auf die Bakterienflora des Säuglingsdarmes. 27. 145
- Hefenukleinsäure, Wirkung auf das hämolytische Komplement. 366
- Helminthen, Häufigkeit ihres Vorkommens bei Hunden. 610
- , Häufigkeit ihres Vorkommens bei Katzen. 610
- , Häufigkeit ihres Vorkommens bei Pferden. 611
- , Häufigkeit ihres Vorkommens bei Tieren. 610
- Hemistoma alatum, Vorkommen beim Hunde. 610
- Hetol, Wirkung auf das hämolytische Komplement. 366
- Huhn, Infektionsmöglichkeit mit Dourine-Trypanosomen. 483
- , Spirochätiasse, Uebertragung durch Argas persicus. 494
- Hund, Häufigkeit des Vorkommens von Helminthen. 610
- , infektiöse Gelbsucht, durch Piroplasma commune verursacht. 592
- Immunisierung, aktive, Bedeutung der dabei auftretenden negativen Phase hinsichtlich der Empfänglichkeit. 503
- , endorektale, gegen Wut. 624
- gegen septische Pneumonie der Kälber mittels Aggressive. 320. 323
- — — mittels Extrakte des Bacillus vitulisepticus. 329
- gegen Tuberkulose mittels abgeschwächter Tuberkelbacillen. 289
- gegen Wut, Methoden in russischen und ausländischen Pasteur-Instituten. 627
- Immunität, natürliche, Bedeutung der Toxinbindung durch Gewebe für dieselbe. 70. 213
- Immunkörper hämatolytischer Immunsera, Isolierung und Reinigung. 274
- , hämolytische, Säurenatur derselben. 511. 512
- Immunserum s. Serum, Immun-
- Imprägnation, Silber-, zur Unterscheidung von Lepra- und Tuberkelbacillen. 570
- Infektion, Misch-, Agglutination bei derselben. 263
- Inkubation, Bedeutung der Toxinbindung durch Gewebe für dieselbe. 70. 215
- Ixodes hexagonus, Biologie. 611
- ricinus, Biologie. 611
- Ixodiden, Biologie. 611
- Kapselbildung bei Bacillus anthracis. 415
- bei Bakterien, Verhältnis zur Sporenbildung. 426
- Kartoffelnährbouillon zur Züchtung der Tuberkelbacillen. 664
- Katze, Häufigkeit des Vorkommens von Helminthen. 610
- Körperchen, Guarnierische, Nachweis bei Vaccine. 245
- Komplement, Ablenkungsversuche mit Typhusimmunseris. 670
- , hämolytische, Wirkung Leukocytose erregender Mittel (Hetol und Hefenukleinsäure). 366

- Kultur, Galle-, des *Bacillus typhi* zum Nachweise im Blute. 139
- Lactobacillin, Wirkung auf die Bakterienflora des Säuglingsdarmes. 26
- Lambliia intestinalis*, Vorkommen bei *Mus musculus*. 609
- Leberwurst, Ursache einer Fleischvergiftung, Erreger. 169
- Leprabacillen s. *Bacillus leprae*.
- Lepus timidus*, Wirt von *Eimeria Stiedai*. 609
- Leukocyten, Beziehung zum Tetanustoxin. 84
- Leukocytose erregende Mittel, Beeinflussung des hämolytischen Komplements. 366
- Licht, Wirkung auf das Reduktionsvermögen der Bakterien. 555
- Limnaeus trunculatus*, Wirt von *Cercarien*. 610
- Lungenbrustfellentzündung der Kälber s. a. Pneumonie, septische, der Kälber.
- Macacus rhesus*, experimentelle Hauttuberkulose. 298
- Magencarcinom und Milchsäurebacillen, Untersuchungen. 445
- Mageninhalt, Wirkung auf *Vibrio cholerae*. 561
- Magensaft, Wirkung auf *Vibrio cholerae*. 561
- Malachitgrünagar zum Nachweise von Bacillen der Typhusgruppe. 540
- Meerschweinchen, Infektion mit *Sarcocystis muris*. 614
- , Sarkosporidiose. 614
- Meningitis cerebrospinalis epidemica, Erleichterung der Meningokokkendiagnose. 584
- Meningococcus-Gruppe, Hämagglutinationsvermögen. 642
- Meningokokken, Diagnose, Erleichterung. 584
- Mesocostoides lineatus*, Vorkommen beim Hunde. 610
- Micrococcus prodigiosus*, Reduktionsvermögen. 553
- Miescheria muris* s. *Sarcocystis muris*.
- Mikroorganismen, Verhalten der Gelenkhöhle normaler und immunisierter Tiere bei Impfung mit denselben. 590
- Milchsäure, Wirkung auf die Bakterienflora des Säuglingsdarmes. 25
- Milchsäurebacillen und Magencarcinom. 445
- von Boas-Oppler, biochemische Leistungen. 449
- — —, kulturelle Eigenschaften. 447
- — —, im Magen und Stuhl, diagnostische Bedeutung. 459
- — —, morphologische und biologische Eigenschaften. 447. 453
- Milzbrandbacillen s. *Bacillus anthracis*.
- Mischinfektion, Agglutination bei derselben. 263
- Monostomum vicarium* n. sp., Anatomie. 362
- Mus decumanus*, Infektion mit *Sarcocystis muris*. 613
- *musculus*, Wirt von *Eimeria falciformis*. 610
- —, Wirt vom *Lambliia intestinalis*. 609
- Nährböden, Einheit der Zusammensetzung. 666
- , Herstellung. 666
- , kohlenhydrathaltige, zur Unterscheidung von Streptokokken. 1
- zum Nachweise des *Bacterium coli* im Trinkwasser. 280
- Nährbouillon, Kartoffel-, zur Züchtung von Tuberkelbacillen. 664
- Nagana-Trypanosoma s. Trypanosoma, Nagana.
- Nervensubstanz, Bindung des Tetanustoxins. 79
- Opisthorchis felineus*, Vorkommen beim Hunde. 610
- Organe, Attraktion von Tetanustoxin. 91
- , Bindung von Tetanustoxin. 79. 90. 213
- Organewebe, Toxinbindung und deren Bedeutung für Inkubation und Immunität. 70. 213
- Oxyuris equi, Vorkommen bei Pferden. 611
- *vermicularis*, Beziehung zur Appendicitis. 495
- —, Beziehung zur Darmwand. 495
- Paratyphus, Krankheitsfälle. 560
- Paratyphusbacillen s. *Bacillus paratyphi*.
- Pemphigus, Rolle der *Sarcina Loewenbergi*. 177
- Perlsuchtbacillen, differentialdiagnostische Färbemethode. 654
- Perlsuchtbacillen, Struktur. 657
- Pferd, Häufigkeit des Vorkommens von Helminthen. 611
- Phagocytentheorie u. Tetanustoxin. 84
- Phase, negative, bei der aktiven Immunisierung, Bedeutung hinsichtlich der Empfänglichkeit. 503
- Pinna-Arten, Wirte von *Spirochaete pinnae* und *Spirochaete Hartmanni*. 491
- Piroplasma commune, Eigenschaften. 602
- —, Erreger der infektiösen Gelbsucht, Untersuchungen. 592
- —, Färbung. 601
- —, Uebertragung durch *Uncinaria canis*, *Ctenocephalus canis* und *Dermacentor occidentalis*. 607
- Piroplasmosis der Hunde, Untersuchung. 592
- Plasma, Ekto-, Theorie. 415
- Pleuropneumonie der Kälber s. a. Pneumonie, septische, der Kälber.
- Pneumococcus-Gruppe, Hämagglutinationsvermögen. 642
- Pneumokokken, Verhalten auf kohlenhydrathaltigen Nährböden. 8
- Pneumonie eines Königstigers, durch *Bacillus pneumoniae tigris* verursacht. 581
- , septische, der Kälber, durch *Bacillus vitulisepticus* verursacht. 308

- Pneumonie, septische, der Kälber, Immunisierung mittels aggressiver Exsudate. 320. 323
- , —, —, Immunisierung mittels Extrakte des *Bacillus vitulisepticus*. 329
- , —, —, polyvalentes Heilserum. 337
- Protozoen, parasitäre, im Kanton Waadt beobachtet. 609
- Ratte s. *Mus decumanus*.
- Reduktionsvermögen der Bakterien, Wirkung verschiedener Bedingungen. 545
- Ricin, Natur seiner hämolytischen Wirkung. 372
- Rückfallfieber s. *Febris recurrens*.
- Säuglingsdarm s. Darm, Säuglings-.
- Säure, Bildung durch Streptokokken auf kohlenhydrathaltigen Nährböden. 4
- Säurenatur der hämolytischen Immunkörper. 511. 512
- Sarcina Loewenbergi*, kulturelle und morphologische Eigenschaften. 178
- , Pathogenität für Tiere. 180
- , Rolle beim Pemphigus der Mund- und Nasenschleimhaut. 177
- Sarcocystis Bertrami*, Sporen. 59
- muris, Infektion von Meerschweinchen. 614
- , Infektion von Ratten. 613
- , Sporen. 56
- Sarkosporidien, Beobachtungen. 56. 612
- , Infektion von Ratten. 613
- Sarkosporidiose bei Meerschweinchen, Erzeugung. 614
- Scharlach, Serumreaktion. 51
- Schweinepest, durch *Bac. suipestifer* verursacht oder nicht? 31. 586
- , Epidemiologisches. 36
- , Spezifität des *Bacillus suipestifer*. 31. 186
- Sclerostomum equinum*, Vorkommen bei Pferden. 611
- Serodiagnose der Syphilis. 49
- Serum, Cholera-, antitoxisches, Untersuchung. 100
- , Diphtherie-, antitoxisches und antimikrobisches. 248
- , Beziehungen des Antitoxingehaltes zu seinem Heilwert. 124
- , Immun-, hämatolytisches, Isolierung und Reinigung seiner Immunkörper. 274
- , Typhus-, Agglutinations- und Komplementablenkungsversuche. 670
- gegen die septische Pneumonie der Kälber, Polyvalenz. 337
- , spezifisches, gegen *Balantidium coli*. 361
- , Typhus-, antitoxisches, Untersuchung. 121
- Serumreaktion bei Scharlach. 51
- von Wassermann bei Syphilis, Theorie, Technik und Bedeutung. 379
- Silberimprägnation zur Unterscheidung von Lepra- und Tuberkelbacillen. 570
- Smegmabacillen, Struktur. 661
- Spirillen, Impfversuche mit spirillenhaltigem Blut. 349
- Spirillen des Rückfall- und Zeckenfiebers, Geißeln. 471
- Spirillum Obermeieri*, Impfversuche mit spirillenhaltigem Blut. 349
- Spirochaete Hartmanni* n. sp., Vorkommen im Darm von Pinna, Morphologie und Biologie. 493
- Obermeieri, Nachweis bei *Febris recurrens*. 467
- pallida, Färbung. 46
- , Kulturversuche. 46. 487
- , Untersuchungen. 45
- pinnae n. sp., Vorkommen im Darm von Pinna, Morphologie und Biologie. 492
- Spirochäten, Uebertragung durch *Argas persicus* auf Hühner. 494
- Spirochätiose der Hühner, Uebertragung durch *Argas persicus*. 494
- Spiropt. megastoma, Vorkommen bei Pferden. 611
- microstoma, Vorkommen bei Pferden. 611
- reticulata, Vorkommen bei Pferden. 611
- Sporenbildung bei Bakterien, Verhältnis zur Kapselbildung. 426
- Staphylococcus pyogenes aureus*, Reduktionsvermögen. 553
- , Verhalten der Gelenkhöhle bei Impfung mit demselben. 591
- , —-Gruppe, Hämagglutinationsvermögen. 642
- Streptococcus chorea*, Verhalten auf kohlenhydrathaltigen Nährböden. 8
- mitior, Säurebildung auf kohlenhydrathaltigen Nährböden. 7
- mucosus, Säurebildung auf kohlenhydrathaltigen Nährböden. 8
- pyogenes-Gruppe, Säurebildung auf kohlenhydrathaltigen Nährböden. 4
- Streptokokken, Alkalibildung auf hohlenhydrathaltigen Nährböden. 8
- , Säurebildung auf hohlenhydrathaltigen Nährböden. 4
- , Unterscheidung durch kohlenhydrathaltige Nährböden. 1
- Strongylus pusillus*, Vorkommen bei Katzen. 610
- Struktur verschiedener säurefester Bakterienarten. 654
- Syphilis s. a. *Spirochaete pallida*.
- , experimentelle Beiträge. 41
- , Serumreaktion. 49
- , — von Wassermann, Theorie, Technik und Bedeutung derselben. 379
- , *Spirochaete pallida*, Untersuchungen. 45
- Taenia serrata*, Vorkommen beim Hunde. 610
- Tannin, Wirkung auf die Bakterienflora des Säuglingsdarmes. 25
- Temperatur, Wirkung auf das Reduktionsvermögen der Bakterien. 555
- Tetanus-antitoxin, Wirkung auf das Tetanustoxin. 77

| | | | |
|--|---------|--|-----|
| Tetanustoxin, Attraktion durch Organ-
gewebe. | 91. 213 | Typhus abdominalis, Agglutination von
Typhus- und Paratyphusbacillen, Ver-
gleich. | 519 |
| —, Beziehung zu den Leukocyten. | 84 | — —, bakteriologische Blutuntersuchung,
Gallekultur. | 136 |
| —, Bindung durch Nervensubstanz. | 79 | — —, Endotoxine und Antiendotoxine. | 98 |
| —, Bindung durch Organgewebe. | 90. 213 | — —, klinisch-bakteriologische Bedeutung
der quantitativen Bestimmung der Ty-
phusbakteriämie. | 393 |
| — und Phagocytentheorie. | 84 | —, Serum, antitoxisches, Untersuchung. | 121 |
| —, Wirkung auf verschiedene Tierspecies. | 87 | Typhusbacillen s. <i>Bacillus typhi</i> . | |
| —, Wirkung von Tetanusantitoxin. | 77 | Typhusimmunsers, Agglutinations- und
Komplementablenkungsversuche. | 670 |
| Thiocol, Wirkung auf die Bakterienflora
des Säuglingsdarmes. | 25 | <i>Uncinaria canis</i> , Uebertragung des Piro-
plasma commune. | 607 |
| Toxine, Anti- s. Antitoxine. | | Vaccine, Immunisierungsversuche. | 237 |
| —, Bindung durch Organgewebe und deren
Bedeutung für Inkubation und Immuni-
tät. | 70. 213 | —, morphologische Untersuchungen. | 245 |
| —, Endo- s. Endotoxine. | | —, Nachweis Guarnierischer Körperchen. | 245 |
| Trachom, Aetiologie. | 432 | Vererbbarkeit der Wut. | 203 |
| Trachomkörperchen, Untersuchungen. | 435 | <i>Vibrio cholerae</i> , Wirkung des menschlichen
Mageninhaltes. | 561 |
| Trematoden, Ursache von Hautwucherun-
gen bei <i>Zeus faber</i> . | 62 | Wasser, Trink-, Nachweis des <i>Bac. coli</i> ,
Vergleich der Nährböden. | 280 |
| Trematodeucysten, subkutane, bei <i>Zeus</i>
<i>faber</i> . | 62 | Wismuth, Wirkung auf die Bakterienflora
des Säuglingsdarmes. | 25 |
| <i>Trichosoma plica</i> , Vorkommen beim Hunde. | 610 | Wurst, Leber- s. Leberwurst. | |
| Trinkwasser s. Wasser, Trink-. | | Wut, Immunisierung auf endorektalem
Wege. | 624 |
| <i>Trypanosoma Brucei</i> , Konjugation. | 474 | —, Impfungsmethoden in russischen und
ausländischen Pasteur-Instituten. | 627 |
| — —, Untersuchungen. | 473 | —, Infektion auf endorektalem Wege. | 622 |
| —, Dourine-, Infektionsmöglichkeit der
Hühner. | 483 | —, Infektionsfähigkeit des Blutes. | 209 |
| — equinum, Konjugation. | 474 | —, Uebergang des Virus von Mutter auf
Fötus. | 203 |
| — —, Untersuchungen. | 473 | —, Uebertragung vor Ausbruch der ersten
Symptome. | 208 |
| —, Nagana-, Untersuchungen. | 350 | —, Vererbbarkeit. | 203 |
| Tuberkelbacillen s. <i>Bacillus tuberculosis</i> . | | —, Virus, Vorhandensein im Blute. | 209 |
| Tuberkulose s. a. <i>Bacillus tuberculosis</i> . | | Zeckenfieber, Geißelnachweis an den Spi-
rillen. | 471 |
| —, experimentelle Untersuchungen. | 289 | <i>Zeus faber</i> , Hautwucherungen durch Tre-
matoden. | 62 |
| —, Haut-, experimentelle, bei Affen. | 298 | | |
| —, Immunisierung mittels abgeschwächter
Tuberkelbacillen. | 289 | | |
| Tumoren, Aetiologie und Biologie. | 440 | | |
| —, maligne, Erzeugung durch Infektion. | 342 | | |
| Typhus abdominalis, Agglutination bei
Mischinfektion. | 263 | | |

III. Verzeichnis der Abbildungen.

| | | | |
|--|----------------------|---|----------|
| Affe, experimentelle Hauttuberkulose (<i>Bacillenpräparat</i>). (Taf. II, IV.) | 306 | Gelbsucht, infektiöse, bei Meerschwein-
chen, pathologische Veränderung. | 599. |
| —, — (Moulage). (Taf. I, III.) | 306 | | 600 |
| Agglutinationsmethoden, neue. | 515 | Hauttuberkulose s. Tuberkulose, Haut-. | |
| Bacillen, Milchsäure-, von Boas-Oppler,
Morphologie, Verzweigungen. | 447—450.
457. 458 | <i>Ixodes ricinus</i> , Biologie, Eierlegen. | 612 |
| <i>Bacillus leprae</i> , Silberimprägnationsme-
thode. (Taf., Fig. 1.) | 57 | <i>Monostomum vicarium</i> n. sp., <i>Habitusbild</i> . | 364 |
| — tuberculosis, Silberimprägnationsme-
thode. (Taf., Fig. 2.) | 57 | <i>Oxyuris vermicularis</i> , Kopfteil in der Ap-
pendixschleimhaut. | 498 |
| <i>Febris recurrens</i> , Spirillen. (Taf., Fig. 3, 4.) | 472 | <i>Piroplasma commune</i> , Morphologie. (Taf.) | 600 |
| — —, <i>Spirochaete Obermeieri</i> im Blut. | 467 | <i>Sarcina Loewenbergi</i> , Aussehen. | 180. 182 |
| Gelbsucht, infektiöse, beim Hunde, patho-
logische Veränderung. | 603. 604 | <i>Sarcocystis Bertrami</i> , Sporen. (Taf. II,
Fig. 11, 12.) | 61 |
| | | — muris, Sporen. (Taf. I, Fig. 1—6.
Taf. II, Fig. 7—10.) | 61 |

| | | | |
|--|-----|---|-----------------------|
| Sarkosporid in Meerschweinchenmuskeln.
(Taf.) | 622 | Trachom, experimentelles, beim Makako,
Bindehautzellen. (Taf.) | 440 |
| Silberimprägnationsmethode zur Unter-
suchung von <i>Bac. leprae</i> und <i>Bac. tuber-</i>
<i>cul.</i> (Taf.) | 57 | Trematode in Cyste bei <i>Zeus faber</i> . | 64 |
| Spirillen des <i>Febris recurrens</i> . (Taf.,
Fig. 3, 4.) | 472 | <i>Trypanosoma Brucei</i> , Konjugationsformen.
475—478. 480. 482 | |
| — des Zeckenfiebers. (Taf., Fig. 1, 2.) | 472 | — <i>equinum</i> , Konjugationsformen. | 475—
478. 480. 482 |
| <i>Spirochaete Hartmanni</i> , Morphologie etc.
(Taf., Fig. 14—24.) | 494 | Tuberkulose, Haut-, experimentelle, beim
Affe, (<i>Bacillenpräparat</i>). (Taf. II, IV.) | 306 |
| — <i>Obermeieri</i> im Blute bei <i>Febris recur-</i>
<i>rens</i> . | 467 | —, —, —, — (Moulage). (Taf. I, III.) | 306 |
| — <i>pallida</i> , Züchtungsversuch. | 490 | Vaccine, Morphologie (<i>Guarnierische Kör-</i>
<i>perchen</i> etc.) (Taf.) | 248 |
| — <i>pinnae</i> , Morphologie etc. (Taf., Fig. 1
—13.) | 494 | Zeckenfieber, Spirillen. (Taf., Fig. 1, 2.) | 472 |
| Toxin, Bindung durch Organgewebe, Dar-
stellung. | 95 | <i>Zeus faber</i> , Hautwucherungen, durch Tre-
matoden verursacht. | 62 |
| | | —, —, Trematodencyste. | 64 |

Berichtigung

zu dem Aufsatz über „Hämagglutination und Hämolyse von L. v. Liebermann“
(dieses Centralbl. Heft 3):

- p. 374 Z. 14 v. u. statt nur lies nun,
p. 375 Z. 26 v. o. statt Absorption lies Adsorption,
p. 375 Z. 3 v. u. statt Bugaronsky lies Bugarszky,
p. 376 Z. 23 v. o. statt Auflockerung lies Ausflockung,
p. 376 Anmerkung: statt Bugaronsky lies Bugarszky, statt Työqvest lies
Sjöqvist.

Berichtigung.

In der Arbeit „Nedrigailoff, Die Methoden der Impfung gegen die Tollwut
in russischen und ausländischen Pasteur-Instituten“ (Bd. XLVII. Heft 5 dies. Centralbl.)
ist überall, wo Hirn steht, zu setzen: Rückenmark.

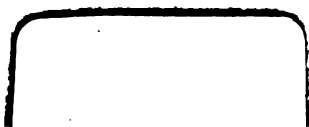
Ferner S. 629 Z. 12 v. o. lies Rückenmark statt Mixus,

- „ „ „ 14 „ „ „ L statt I,
„ „ „ 15 „ „ „ KOH statt Kalilauge,
„ „ „ 23 „ „ „ KOH „ Kose,
„ „ „ 31 „ „ „ L statt I,
„ 630 Tabelle I, Spalte 1, Z. 4 v. o. lies KOH statt Kose,
„ „ „ „ „ Breslau, Z. 3 v. o. lies 1500 statt 1800,
„ „ „ „ „ „ 4 „ „ „ 2 statt 1,
„ „ „ „ „ „ 8 „ „ „ 2 „ 0,9,
„ „ „ „ „ „ 9 „ „ „ 20 „ 9,
„ „ Z. 18 u. 6 v. u. lies KOH statt Kose,
„ „ „ 14 v. u. lies 1,9—2—2,2 statt 1,9—2,2,
„ „ „ 11 „ „ „ 19—20—22 „ 19—22,
„ 633 „ 15 „ „ notwendiger statt nötiger,
„ 635 „ 10 „ „ „ KOH statt Kose,
„ 638 „ 2 „ „ „ Kotzewaloff statt Kotzewalon.

— 3 —

ATE THE SUP

st.



st.

